

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* L. (GUANÁBANA) EN RATAS ALBINAS”

**Tesis para optar el Título Profesional de
Químico Farmacéutico y Bioquímico**

TESISTAS:

**BALVIN PALACIOS, YANET ROCIO
TARDEO VIDALON, YSABEL**

ASESOR:

Mg. CASANA VARGAS, CARLOS MOISÉS

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

A Lázaro, mi amado padre, por confiar en mí, por su inmensa bondad y ser el ángel que guía mi camino desde el cielo.

A Estela, mi querida madre, por su infinito amor y apoyo inagotable en este largo camino, su admirable fortaleza cuando todo se complicaba. Ella es parte de este logro.

A mi familia, por quererme, apoyarme y comprenderme en todo momento.

Yanet

A Dios, por darme salud, bienestar y sabiduría para lograr mis objetivos y hacer realidad mi sueño.

A mis padres, Rosalina y Lucio, por ser mi ejemplo y motivación, por brindarme su apoyo y amor incondicional y siempre preocuparse por mi bienestar. Todo este logro es gracias a ellos.

A mis hermanos por su apoyo y comprensión en los momentos donde más los necesitaba.

Ysabel

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirnos lograr nuestras metas.

A nuestra Alma Mater, la Universidad Inca Garcilaso de la Vega y a los docentes de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica, por los aprendizajes recibidos para lograr nuestra formación profesional.

A nuestro asesor, Mg. Carlos Moisés Casana Vargas, por su dedicación, orientación y enseñanza que ayudó mucho para el desarrollo y término de la tesis.

A nuestros compañeros y amigos por compartir conocimientos alegrías y tristezas.

Yanet e Ysabel

ABREVIATURAS

ANOVA:	Análisis de varianza
EEAM:	Extracto de acetato de etilo de hojas de <i>Annona muricata</i> L.
MDA:	Malondialdehído
HgCl ₂ :	Dicloruro de mercurio
HCl:	Ácido clorhídrico
OMS:	Organización mundial de la salud
TAD:	Toxicidad aguda dermal

ÍNDICE

Acta de sustentación	
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Abreviaturas	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	Pag.
Introducción.....	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
1.1. Descripción de la realidad problemática.....	3
1.2. Formulación del problema	4
1.2.1. Problema general.....	4
1.2.2. Problemas específicos.....	4
1.3. Objetivos	5
1.3.1. Objetivo general.....	5
1.3.2. Objetivos específicos.....	5
1.4. Justificación.....	5
1.5. Limitaciones metodológicas.....	6
 CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....	 7
2.1. Estado del arte.....	7
2.1.1. Antecedentes nacionales.....	7
2.1.2. Antecedentes extranjeros.....	10
2.2. Bases Teóricas.....	13
2.2.1. La <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	13
2.2.2. La piel.....	20
2.2.3. Heridas.....	23

2.2.4.	Cicatrización	24
2.2.5.	Forma farmacéutica	28
2.3.	Hipótesis	29
2.3.1.	Hipótesis general.....	29
2.3.2.	Hipótesis específicas.....	29
2.4.	Definición de términos básicos.....	31
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....		32
3.1.	Tipo y diseño de investigación.....	32
3.2.	Población y muestra.....	32
3.3.	Equipos, materiales y reactivos.....	33
3.4.	Procedimiento experimental.....	35
3.5.	Procesamiento de datos.....	47
CAPÍTULO IV: RESULTADOS.....		48
4.1.	Presentación.....	48
4.2.	Contrastación de hipótesis	53
4.3.	Discusión.....	57
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....		59
5.1.	Conclusiones.....	59
5.2.	Recomendaciones.....	60
REFERENCIAS.....		61
ANEXOS		67-88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1:	Composición química de la <i>Annona muricata</i> L (Guanábana).....	19
Tabla N° 2:	Operacionalización de variables.....	30
Tabla N° 3:	Equipos que se utilizaron para la investigación.....	33
Tabla N° 4:	Excipientes para la elaboración del gel.....	41
Tabla N° 5:	Formulación del gel a base del extracto de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	42
Tabla N° 6:	Tratamiento de experimentación en la toxicidad aguda dermal de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	44
Tabla N° 7:	Grupos de tratamiento de experimentación con animales.....	46
Tabla N° 8:	Resultados de la marcha de solubilidad.....	48
Tabla N° 9:	Resultados de marcha fitoquímica para metabolitos primarios.....	49
Tabla N° 10:	Resultados de marcha fitoquímica para metabolitos secundarios.....	49
Tabla N° 11:	Resultados de la toxicidad aguda dermal de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	50
Tabla N° 12:	Resultados del efecto cicatrizante del gel de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	51
Tabla N° 13:	Porcentaje de efecto cicatrizante del gel <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	52

Tabla N° 14:	Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	53
Tabla N° 15:	Área de cierre de las tres concentraciones	54
Tabla N° 16:	Análisis de estadístico de Tukey.....	55
Tabla N° 17:	Área de cierre de heridas.....	56
Tabla N° 18:	Análisis de varianza Anova.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1:	<i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	15
Figura N° 2:	Estructura de los principales flavonoides.....	17
Figura N° 3:	Estructura química de los tipos de fenoles presentes en <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	18
Figura N° 4:	Anatomía de la piel.....	23
Figura N° 5:	El sistema tegumentario.....	26
Figura N° 6:	Efecto cicatrizante del gel de <i>Annona muricata</i> L (Guanábana).	52
Figura N° 7:	Recolección de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	68
Figura N° 8:	Constancia taxonómica de la especie vegetal.....	69
Figura N° 9:	Separación de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	70
Figura N° 10:	Muestras puestas en papel kraft para ser llevados a la estufa.....	70
Figura N° 11:	Filtrado de las muestras de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	71
Figura N° 12:	Muestras de guanábana llevados a la estufa a 40°C.....	71
Figura N° 13:	Preparación del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	72
Figura N° 14:	Tamizaje fitoquímico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	73
Figura N° 15:	Solubilidad de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	74
Figura N° 16:	Cromatografía de alcaloides y flavanoides.....	75
Figura N° 17:	Sala de experimentación.....	76
Figura N° 18:	Pesaje de ratas albinas macho cepa Holtzman.....	76

Figura N° 19: Instrumentos de disección y anestésicos usados.....	77
Figura N° 20: Inoculación intraperitoneal para la sedación.....	77
Figura N° 21: Rasurado.....	78
Figura N° 22: Formación de heridas encisas.....	78
Figura N° 23: Control negativo.....	79
Figura N° 24: Grupo control positivo.....	79
Figura N° 25: Dosis al 25% al final del tratamiento.....	80

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 1:	Matriz de consistencia.....	67
Anexo N° 2:	Recolección de la especie vegetal.....	68
Anexo N° 3:	Clasificación taxonómica de la especie vegetal.....	69
Anexo N° 4:	Preparación de la materia prima.....	70
Anexo N° 5:	Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	71
Anexo N° 6:	Preparación del gel a base de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	72
Anexo N° 7:	Prueba de screening fitoquímico.....	73
Anexo N° 8:	Prueba de solubilidad.....	74
Anexo N° 9:	Cromatografía de capa fina de la <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana).....	75
Anexo N° 10:	Trabajos de experimentación en el bioterio.....	76
Anexo N° 11:	Datos estadísticos del área de cierre de heridas en días.....	81
Anexo N° 12:	Certificación sanitaria	82
Anexo N° 13:	Ficha Ad - Hoc.....	83

RESUMEN

La investigación tuvo como objetivo primordial determinar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) en ratas albinas. El efecto cicatrizante fue evaluado mediante el método de incisión de heridas, descrito por Nayak y Col. Se procedió a preparar geles con el extracto obtenido en tres concentraciones distintas 10,15 y 25 por ciento para aplicar sobre las heridas, y como control positivo, se utilizó "Cicatricure"gel. El tratamiento duró 28 días y se usaron 25 ratas divididas en cinco grupos de cinco animales. Se determinó que los geles preparados a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) presentan efecto cicatrizante en las concentraciones de 10, 15 y 25%, en el modelo de la muestra estudiado, donde la mejor efectividad se encuentra en el siguiente orden: 25, 15 y 10 por ciento, siendo la concentración al 25% la que obtuvo 93.07% de efecto cicatrizante comparado con el control positivo Cicatricure gel que presentó un 99.94%.

Palabras clave: *Annona muricata* L.,extracto hidroalcohólico, heridas encisas, Cicatricure.

ABSTRACT

The main objective of the research was to determine the healing effect of the gel based on the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. (Soursop) in albino rats. The healing effect was evaluated by the wound incision method, described by Nayak and Col. We proceeded to prepare gels with the extract obtained in three different concentrations 10, 15 and 25 percent to apply on wounds, and as a positive control, "Cicatricure" gel was used. The treatment lasted 28 days and 25 rats divided into five groups of five animals were used. It was determined that the gels prepared from the hydroalcoholic extract of the leaves of *Annona muricata* L. (Soursop) present healing effect at concentrations of 10, 15 and 25%, in the model of the sample studied, where the best effectiveness is found in the following order: 25, 15 and 10 percent, being the concentration at 25% which obtained 93.07% of cicatrizant effect compared to the positive control Cicatricure gel that presented a 99.94%.

Keywords: *Annona muricata* L., hydroalcoholic extract, faint wounds, Cicatricure.

INTRODUCCIÓN

La naturaleza a lo largo de nuestra existencia sigue brindando beneficios para la salud por estar al alcance de la población, dado que el ser humano es propenso a sufrir múltiples problemas de salud, ya sea infecciones, fiebre, golpe, cortes, cicatrización de heridas etc. De este modo, la investigación propuesta en sus fines trató de determinar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) para futuras investigaciones y opciones de tratamiento.

Entre los retos que el hombre afronta, frente a la naturaleza, desde tiempos ancestrales, se encuentra el estudio de las especies vegetales con fines medicinales, que parte del conocimiento mínimo acerca de las plantas, de sus componentes químicos y en mayor detalle de los principios activos que poseen.

En la actualidad, la utilización de un conjunto de plantas como medio terapéutico natural, corrobora la existencia de mezclas químicas que tienen actividad farmacológica, conocidas como principios activos, que regularmente constituyen los ingredientes básicos y que son ampliamente usados por las industrias farmacéuticas, como fase inicial, en el desarrollo de productos comerciales y que luego serán patentados para su utilización con fines terapéuticos;⁽¹⁾ es por ello el estudio de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con fines terapéuticos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), a partir de 1975 ha expresado su reconocimiento e importancia del aporte de la medicina tradicional en la conservación de la salud ya que se estima que un 80% de la población mundial depende de las plantas para su atención primaria de la salud, por ser la medicina natural la única disponible. Actualmente, se desea rescatar la medicina tradicional y en base a ésta, buscar nuevas opciones terapéuticas con el fin de obtener resultados eficaces, ya que existe una creciente insatisfacción hacia la medicina convencional, ya sea por la falta de efectividad, por los efectos colaterales que provocan el uso de ciertos medicamentos o por su elevado costo. Debido a la importancia de las plantas medicinales en la salud se considera el estudio, análisis y utilización con el fin de que los beneficios de éstas se encuentren al alcance de la población.⁽²⁾

En estos últimos años el uso de las plantas medicinales ha crecido de tal manera que se emplean en la farmacología, industria alimentaria, perfumería y cosmética. La *Annona muricata* L. (Guanábana) es una planta muy popular por sus propiedades medicinales, por lo tanto, es de gran interés su estudio, ya que se reporta pocos trabajos de investigación de acción cicatrizante.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

Las heridas crónicas y no cicatrizadas tienen una elevada incidencia en la población a nivel mundial. ⁽³⁾ La piel siendo el órgano más grande del cuerpo humano, siempre está vulnerable a sufrir una afección, y dentro de lo que contempla la recuperación del mismo, la cicatrización juega un papel importante, es por eso que es de interés un medicamento que acelere este proceso ya que así garantizamos una sana recuperación y al mismo tiempo se logra disminuir el riesgo de infección. ⁽⁴⁾

En el mundo existen más de cien millones de individuos que poseen cicatrices. Estas son provocadas por distintos factores, como cirugías, quemaduras, cortes y otros. ⁽⁵⁾

Por lo general, las cicatrices se generan a partir de una lesión que afecta más del 30 por ciento de la piel. Asimismo, se estima que más de 20 millones de personas que poseen cicatrices son dañados psicológicamente. ⁽⁶⁾ La cifra de pacientes que poseen una cicatriz se ha incrementado, ya que muchos de ellos buscan una respuesta rápida y eficiente. ⁽⁷⁾

Las plantas curativas son utilizadas desde tiempos ancestrales, los cuales son empleados para diversos tipos de remedios caseros, incluso fue la única opción durante muchos años, ya que no existían industrias farmacéuticas. ⁽⁸⁾

En el Perú, el uso de plantas curativas es una práctica constante en zonas de escasos recursos o lejos de la ciudad, esta situación ha generado que las plantas medicinales sean incluidas en la terapéutica de diversas enfermedades. ⁽⁹⁾

Las plantas medicinales que han tenido un uso prolongado a lo largo de la historia son consideradas como una fuente sustancial de fitoconstitutos activos que brindan beneficios medicinales, una de estas plantas es la *Annona muricata* L. ⁽¹⁰⁾

1.2 Formulación del problema

1.2.1. Problema general:

¿El gel a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante en ratas albinas?

1.2.2. Problemas específicos:

- ✓ ¿Qué metabolitos secundarios se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)?
- ✓ ¿Cuál es la concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas?
- ✓ ¿Tendrá efecto cicatrizante el gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) comparado con Cicatricure gel en ratas albinas?

1.3 Objetivos

1.3.1. Objetivo general:

Determinar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) en ratas albinas.

1.3.2. Objetivos específicos:

- ✓ Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).
- ✓ Determinar la concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas.
- ✓ Comparar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con Cicatricure gel en ratas albinas.

1.4 Justificación

Esta investigación se desarrolló con el propósito de dar a conocer los beneficios de las plantas naturales como una alternativa en el tratamiento y regeneración de la piel en casos de quemaduras, intervenciones quirúrgicas y ruptura de tejidos; es por eso que se propuso evaluar el efecto cicatrizante de *Annona muricata* L. (Guanábana) como una opción de origen natural y más económico, en comparación con los productos comerciales, ya que en algunos casos la solución para el problema se ve limitada debido a costos elevados de los medicamentos y por los efectos secundarios que causan. Debido a este enfoque se ha propuesto la elaboración de un producto natural a base del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana), con la finalidad de comprobar su acción cicatrizante en la piel y a su vez beneficiar a toda la población sobre todo en

las zonas rurales, donde existe bajo nivel social, cultural y económico. Asimismo se propuso contribuir a futuras investigaciones relacionadas con el tema.

1.5 Limitaciones metodológicas

Al inicio fue dificultoso buscar un ambiente adecuado para el tratamiento y cuidado de los animales. Se logró conseguir, posteriormente, el bioterio de la Universidad Cayetano Heredia.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Estado del arte

2.1.1 Antecedentes nacionales

Gallardo G, y Barboza L. (2015). ⁽¹¹⁾ El objetivo de este estudio fue determinar el efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago" a diferentes concentraciones (0,5%, 1% y 2%). Esta publicación académica responde a un diseño experimental y es de corte transversal. Para el método de test de cicatrización fue necesario la utilización de quince ratones *rattus rattus var Albinus*, estos pesaron de 23 a 25 gramos. Luego, estos animales fueron aclimatados y divididos en 5 grupos. A estos animales se aplicó geles, después de ocho días fueron sacrificados, se midió la fuerza de tensión con un dinamómetro para determinar la cicatrización de heridas, obteniéndose resultados favorables en un 95 por ciento de confianza por medio de las pruebas estadísticas: ANOVA OneWay y Prueba de Tukey. Comparando los resultados se obtuvo mayor efecto cicatrizante con el gel al 2% de látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago". ⁽¹¹⁾

Pichilingue, M. (2015). ⁽¹²⁾ Este estudio tuvo como principal objetivo evaluar el efecto cicatrizante de una crema dérmica formulada con la tintura Árnica montana “árnica”, a diferentes concentraciones 0,5% y 1,5% p/v, este se comparó con el efecto cicatrizante del producto “Hipoglos crema”. Para la elaboración de esta investigación fue necesaria hojas y flores frescas del Árnica montana “árnica”, procedentes del distrito de San Marcos, a 2 964 msnm, perteneciente a la provincia de Huari (Ancash - Perú); El método que se utilizó corresponde a Vaisberg y col, para cual fue necesario doce ratones albinos machos cepa Balb C 53, de dos meses de edad, procedentes del Bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Estos animales fueron aclimatados y se agruparon en grupos de cuatro, a estas se les produjo una herida para luego aplicarle un tratamiento con base a crema. Los resultados fueron los siguientes: demuestran que la tintura del Árnica montana “árnica”, tiene efecto cicatrizante a una concentración en estudio 0.5% y 1.5%, de igual forma, la comparación con la crema cicatrizante comercial (hipoglos crema) demostró tener un mayor efecto cicatrizante en la experimentación. Por ello, se concluyó que la crema elaborada a base de la tintura del Árnica Montana “árnica” tiene efecto cicatrizante a las concentraciones 0.5% y 1.5%, con un grado de diferencias significativa de 1,000 frente al Hipoglos crema. ⁽¹²⁾

Díaz, J y Vargas, H. (2017). ⁽¹³⁾ Esta investigación tuvo como propósito determinar el efecto cicatrizante del gel elaborado a base de la tintura de *Verbena officinalis* “Verbena” en *Rattus rattus* variedad albinus. Para la elaboración de este estudio fueron necesarios seis grupos de estudio, dividido en tres grupos (problema, control y blanco). Luego, se realizó una inducción de herida por incisión a los especímenes de diversos grupos. Los resultados de la investigación fueron las siguientes: Mediante el análisis estadístico T de Student se obtuvo valores de $p < 0,05$ lo que señalan la presencia de diferencias significativas entre los resultados. La conclusión de este estudio fue

la siguiente: el gel elaborado a base de la tintura de *Verbena officinalis* “Verbena” presenta efecto cicatrizante, siendo este directamente proporcional a la concentración del gel. ⁽¹³⁾

Juro, S. et al. (2010). ⁽¹⁴⁾ Esta investigación tuvo como principal objetivo determinar el efecto cicatrizante de diferentes formas farmacéuticas de aplicación tópica elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica Diels* en ratones albinos. Para la elaboración de este estudio fue necesario la recolección de hojas, provenientes de Urubamba. Con respecto a los ratones, se le realizaron cortes, luego se le añadió el extracto en diferentes concentraciones, el proceso duró 21 días; finalmente, los animales fueron sacrificados e inmediatamente se realizó la prueba del tensiómetro propuesto por Vaisberg. Los resultados de este estudio fueron los siguientes: la concentración mínima efectiva cicatrizante fue de 5%, encontrándose una relación concentración-cicatrización en el rango de 2.5% a 30% y una relación formulación-cicatrización. Los resultados fueron corroborados con el estudio histológico. Tanto el extracto hidroalcohólico al 5% como las formas farmacéuticas de emulsión O/A e hidrogel presentaron muy buena actividad cicatrizante. ⁽¹⁴⁾

Poma, E. et al. (2011). ⁽¹⁵⁾ Este estudio académico tuvo como principal propósito determinar la actividad antiinflamatoria de la *Annona muricata* L. (Guanábana) de cuzco. Para la elaboración de este estudio se estudió el extracto acuoso de las hojas secas de *Annona muricata* L., proveniente de la ceja de selva de Cuzco. A través del análisis fitoquímico se determinó la presencia de flavonoides y otros metabolitos. Se determinó que el extracto acuoso no es tóxico, de acuerdo al método de dosis límite para la identificar de toxicidad aguda, resultado que fue sustentado con el estudio macroscópico de órganos realizado en la facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM. Con el empleo del método del edema

plantar en ratas inducido por λ -carragenina, se demostró el extracto acuoso a una concentración de 1,5 mg/kg posee actividad antiinflamatoria significativa comparado con indometacina. El análisis estadístico se realizó por el método ANOVA a 95 % de confianza. ⁽¹⁵⁾

2.1.2 Antecedentes extranjeros

Moghadamtousi, SZ. et al. (2015). ⁽¹⁶⁾ El propósito de este estudio fue evaluar el potencial de curación de heridas del extracto de acetato de etilo de hojas de *Annona muricata* (EEAM) hacia modelos de heridas por escisión en ratas. Las ratas Sprague Dawley (24) se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos, a saber. (A) control del vehículo, (B) dosis baja de EEAM (5% p / p), (C) alta dosis de EEAM (10% p / p) y (D) control positivo con herida escisión creada en el área del cuello. Las heridas se vistieron tópicamente dos veces al día durante 15 días. El día 15, los animales se sacrificaron y luego se procesaron para evaluaciones inmunohistoquímicas e histológicas, que incluyen tinciones con hematoxilina y eosina y tricrómico de Masson. La actividad de los antioxidantes, a saber, catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa, y malondialdehído (MDA) se midió en tejido homogeneizado de herida. El análisis macroscópico y microscópico de heridas demostró una actividad importante de cicatrización de heridas mostrada por EEAM en dos dosis. El tratamiento de heridas con ungüento que contenía EEAM causó un aumento significativo en las actividades antioxidantes y una disminución en el nivel de MDA de los tejidos de la herida en comparación con el control del vehículo. La evaluación inmunohistoquímica reveló una notable regulación de Hsp70 en heridas tratadas con EEAM, lo que sugiere el efecto antiinflamatorio de EEAM. EEAM exhibió un prometedor potencial de cicatrización de heridas frente a modelos de heridas por escisión en ratas. ⁽¹⁶⁾

Proaño, J. et al. (2013). ⁽¹⁷⁾ Este estudio se centró en evaluar el efecto cicatrizante de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*) en ratones (*Mus musculus*). Para la evaluación fueron necesarios quince ratones, a los cuales se les aplicó cinco tratamientos (control, blanco, grupo A, B y C). De otro lado, se aplicó el test ANOVA, T-student, intervalo de confianza del 95%. Esta investigación obtuvo los siguientes resultados: posee actividad cicatrizante efectiva en un tiempo de diez días producto de la existencia de flavonoides en las tres plantas y taninos en la cola de caballo que al combinarse mejoran la actividad; los otros tratamientos actúan como antibacterianos tardándose 12 días en cerrar la herida completamente, todos al ser aplicados en forma tópica no presentan efectos adversos a nivel cutáneo.⁽¹⁷⁾

Vit, P. et al. (2014). ⁽¹⁸⁾ El propósito principal de esta investigación fue comparar la composición proximal y la actividad antioxidante de la pulpa, las hojas frescas y secas, y las semillas de la guanábana. Los resultados de esta investigación fueron los siguientes: el mayor nivel de proteínas (14,77g/100g) y de grasa (25,75g/100g) fueron detectados en las semillas. La pulpa mostró el mayor contenido de humedad (86,32g/100g) y las hojas secas el mayor contenido de cenizas (7,17g/100g). La actividad antioxidante de las fracciones estudiadas fue mayor en extractos etanólicos que en extractos metanólicos, al igual que el contenido de flavonoides y polifenoles. La pulpa de guanábana presentó el mayor contenido de flavonoides y de polifenoles.⁽¹⁸⁾

Santamaría, E. (2014). ⁽¹⁹⁾ En esta investigación se evaluó la actividad cicatrizante de las hojas de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*Persea americana*), realizada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. El

método utilizado pertenece al experimental, para el desarrollo de este estudio fueron necesarios dieciocho ratones (*Mus musculus*), se realizó una inducción de una herida. Los resultados fueron sometidos a un análisis estadístico, a través del programa G-STAD (95% de confiabilidad), se obtuvieron los siguientes resultados: el extracto de malva y aguacate poseen actividad cicatrizante efectiva, en un tiempo de siete días producto de la existencia de flavonoides y taninos en la malva y en el aguacate taninos. Se concluyó que los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*Persea americana*) poseen actividad cicatrizante en heridas cutáneas menores y estos al ser aplicados en forma tópica a los grupos experimentales no presentan efectos adversos a nivel cutáneo. ⁽¹⁹⁾

Cabezas, G. (2015): ⁽²⁰⁾ “Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*Tropaeolum majus*) en ratones (*Mus musculus*)”. El efecto curativo del extracto hidroalcohólico de Garden Cress (*Tropaeolum majus*) fue evaluado en diferentes concentraciones en la Facultad de Vivarium of Science de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. El control de calidad del fármaco crudo y el extracto hidroalcohólico, se utilizaron para la evaluación del efecto cicatrizante en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*), considerando el tiempo de curación y la longitud final de la cicatriz, los resultados se analizaron estadísticamente con un intervalo del 95% de confianza, por las pruebas de Anova y Tuckey. A través del análisis fisicoquímico del extracto hidroalcohólico se pudo determinar que tiene un pH de 6.45; densidad relativa 0,9652; índice de refracción 1,358 y 1,49% de sólidos totales. En la cuantificación de compuestos fenólicos se un valor de 821,37 expresado como µg de ácido gálico/g de simple; se cuantificaron obtuvo los flavonoides totales, se obtuvo un valor de 30,89 expresado como µg de catequina/g de simple. Este estudio concluyó que el extracto hidroalcohólico de Garden Cress

(*Tropaeolum majus*) resultó efectivo aplicado en lesiones inducidas, con un mayor efecto sobre la concentración al 80% presentando curación en 10 días, con una longitud de 1,4 cm de cicatriz. Se recomienda desarrollar una forma farmacéutica para facilitar la administración del extracto. ⁽²⁰⁾

2.2 Bases Teóricas

2.2.1 La *Annona muricata* L. (Guanábana)

❖ Historia

La *Annona muricata* L. (Guanábana) es considerada como una especie que forma parte de la familia de las Annonaceas, oriunda de la zona subtropical y tropical de América. En la República del Perú, esta planta está presente desde hace más de mil años antes de Cristo, esto se evidenció tanto en la expresiones culturales antiguas como la cerámica, como en la agricultura de diversos departamento como Ucayali, San Martín, Loreto y una proporción de Cajamarca; asimismo, también se cultiva en departamentos costeros, tales como Lima e Ica. La producción de esta fruta ha significado el aumento de su exportación. ⁽²¹⁾

La *Annona muricata* L., se le conoce también como graviola o guanábana (Perú). Con respecto a su estructura, esta posee hojas consistentes, las cuales son vendidas en las zonas subtropicales y tropicales. De otro lado, las frutas *Annona muricata* L. (Guanábana) son empleadas para la elaboración de helados, dulces, jarabes y otros. El continente africano y sudamérica cuentan con presencia significativa de la *Annona muricata* L. (Guanábana) debido a su uso medicinal.

Numerosas investigaciones han corroborado estas actividades, incluidas las actividades anticancerosas, anticonvulsivantes, antiartríticas, antiparasitarias, antipalúdicas, hepatoprotectoras y antidiabéticas. Los estudios fitoquímicos revelan que las acetogeninas anóxicas son los principales constituyentes de *Annona muricata* L. (Guanábana) ⁽²²⁾

❖ Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: magnoliidae

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: Annona

Especie: Annona muricata L.

Constancia emitida por Blgo: Hamilton Beltrán (Anexo 1)

❖ Descripción botánica

La *Annona muricata* L. (Guanábana) es nativa de las áreas tropicales más cálidas de América del Sur y del Norte y ahora se encuentra ampliamente distribuida en partes tropicales y subtropicales del mundo, incluidas India, Malasia y Nigeria ⁽²³⁾. La guanábana se cultiva en la mayor parte de América tropical, pero generalmente como plantas dispersas en los huertos. La *Annona muricata* L. (Guanábana) yace en árboles que poseen más de diez metros de alto, además posee hojas comunes y de coloración verde oscuro, de otro lado sus flores son bisexuales, estas pueden crecer con otras flores o también solas. Con lo que respecta al fruto, este es una baya o también conocido como

sincarpo. De otro lado, la pulpa es de color blanca y posee un sabor agridulce, mientras que las semillas presentan una coloración oscura. ⁽²⁴⁾



Figura N° 1: *Annona muricata* L. (Guanábana)

Fuente: Elaboración propia

❖ **Composición química**

Componentes químicos de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana):

Alcaloides de tipo isoquinolínico: annomonicina, annomurina, annonaína, annonína, (+) coclaurina, (+) coreximina, (+) reticulina. Alcaloides misceláneos: muricina, muricinina, estefarina, aterospermina, aterosperminina. ⁽²⁵⁾

Las acetogeninas de la hoja con actividad anticancerígena: muricapentocin, muricatocin C, muricatocin A, annomuricin B, annomuricin A, murihexocin C, muricoreacin, bullatacinone, y bullatacin. ⁽²⁶⁾

Entre los lípidos tenemos: ácido esteárico, ácido linoleico, ácido lignocérico, y ácido gentísico. ⁽²⁵⁾

Además, se reportan las siguientes lactonas: annomontacina, annonacina, Solamina, muricatacina. ⁽²⁵⁾

También están presentes los siguientes compuestos:

- ✓ Taninos carcinogénicos.
- ✓ Compuestos fenólicos: ácido cafeíco, ácido p-cumarico, leuncoantocianidinas.
- ✓ Ácido ascórbico.
- ✓ Compuestos cianogenéticos: ácido hidrocianico.
- ✓ Aceite fijo en las semillas (23,9%).
- ✓ Fitoesteroles: β sitoesterol, estigmasterol, arranol, ipuranol).

⁽²⁷⁾

Acetogeninas: son compuestos de interés, por su comprobada actividad biológica presente en las Annonaceae, son un grupo de metabolitos secundarios bioactivos conocidos como acetogeninas. Estas acetogeninas poseen un grupo γ -lactónico α , β -insaturado o saturado y uno, dos, o tres anillos tetrahidrofuránicos sobre una larga cadena alquílica; las cuales presentan diferentes bioactividades como antitumoral, inmunosupresiva, pesticida, antiprotazoal y antimicrobiana; usualmente las posiciones α a los anillos son hidrolizadas. Son compuestos de 35 ó 37 carbonos de origen policétido, con una

cadena alifática que se presenta, según el caso, hidroxilada, cetonzada y/o acetoxilada. ⁽²⁸⁾

❖ Metabolitos secundarios que intervienen en la cicatrización

Flavonoides: es parte de los subgrupos establecidos por compuestos fenólicos más vitales, producto de la actividad antioxidante, ubicados en el reino vegetal que se encuentran en la savia vacuolar de las células raíces, flores y hojas. Pueden organizarse de acuerdo con los grupos funcionales e isomerizaciones. Asimismo, se dividen en 6 tipos, los cuales se denominan: chalconas, flavonas, flavonoles, flavandioles, antocianinas, taninos condensados y auronas. No obstante, están propensos a padecer cambios, lo cual se convertirá en neoflanoides o isoflavonoides. ⁽²⁹⁾

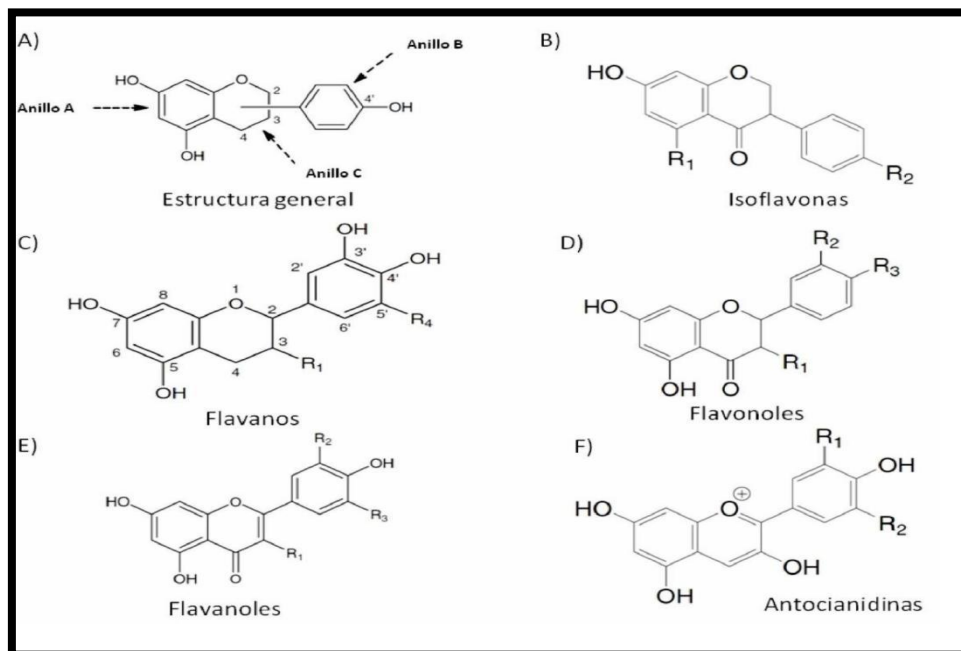


Figura N° 2: Estructura de los principales flavonoides

Fuente. Daniel Limón y otros ,2010

Taninos: son parte de una gran variedad de compuestos hidrosolubles con esquema polifenólica, los cuales tienen la función de adelantar algunas macromoléculas, como es el caso de gelatina, proteína celular y alcaloides. Ya que estos elementos funcionan como enlazadores entre la mucosa y las proteínas ubicadas en la piel para luego ser convertidos a sustancias insolubles integrales. Tiene la función de eliminar la base de cultivos a bacterias que se encuentran en la mucosa o piel. Además, tiene la función de servir como un contrarrestante de las intoxicaciones producto del estaño, mercurio, es decir, de los metales pesados. ⁽³⁰⁾

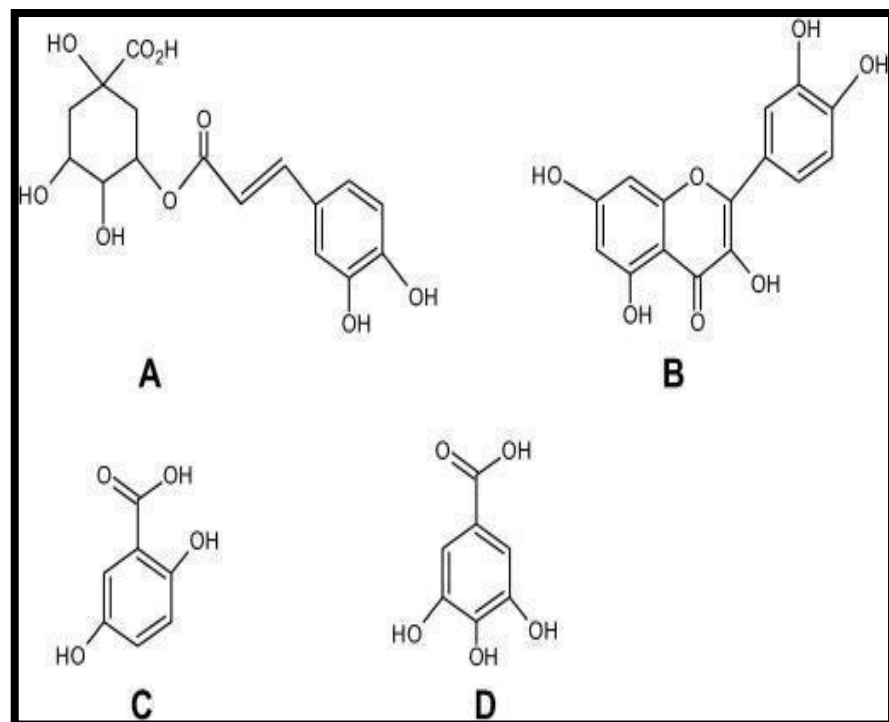


Figura 3. Estructuras químicas de los tipos de fenoles presentes en *A. muricata* L. (A) Tipo de ácido clorogénico. (B) Tipo de flavonoide. (C) Tipo de hidroquinona, (D) Tipo de tanino.

Fuente: ANA V, y otros, julio de 2018

Tabla N° 1: Composición química de la *Annona muricata* L. (Guanábana)

Propiedades nutritivas y medicinales de la guanábana o *Annona muricata* L.

FRUTA FRESCA (cada 100 g)	<p>Azúcares (glucosa y fructosa) (15,63%)</p> <p>Vitaminas C (0,021%)</p> <p>Almidón (1,62%)</p> <p>Proteína (1,22%)</p> <p>Grasa (0,31%)</p> <p>Cenizas (0,73%)</p> <p>Fibra (1,63)</p> <p>Humedad (80,6%)</p> <p>Hierro (0,47 mg)</p> <p>Fósforo (26,0 mg)</p> <p>Magnesio (23,9 mg)</p> <p>Sodio (23 mg)</p> <p>Potasio (45,8 mg)</p> <p>Asimilobina (isoquinolina)</p> <p>Anoniina (isoquinolina)</p> <p>Anonaina (isoquinolina)</p> <p>Ácido Caproico</p> <p>Arginina (aminoácido)</p> <p>Citrulina (proteína)</p>
HOJAS	<p>Isoquinolinas (anonaina, anoniina, atherospermina, y coreximina)</p> <p>Lactonas (javoricina, murihexocina A y C, gigantetroneína, muricoreacina, annopentocinas A, B, y C, annomutacina, annomuricina B, C, y E, y annohexocina)</p> <p>Lípidos (ácido esteárico, ácido linoleico, ácido lignocérico, y ácido genticónico)</p> <p>Acetogeninas con propiedades anticancerígenas (muricapentocina, muricatocina C, muricatocina A, annomuricina B, annomuricina A, murihexocina C, muricoreacina, bullatacinona, y bullatacina)</p>
SEMILLAS	<p>Lactonas</p> <p>Annomonocida</p> <p>Annonacina</p> <p>Annomontana</p>

Fuente: Casillas X, marzo 2010

❖ **Propiedades medicinales**

En la sierra del Perú, *las hojas de la Annona muricata L.* (Guanábana) son utilizadas para combatir el catarro, asimismo la semilla machacada combate la presencia de los parásitos. De otro lado, en la Amazonía, las raíces de la guanábana son utilizadas para lidiar con la diabetes, esta funciona como un antiespasmódico y sedante. Asimismo, sirve como un tónico para el sistema circulatorio, especialmente para el corazón.

En la amazonía de Brasil, las hojas de la *Annona muricata L.* (Guanábana) es utilizada en infusiones con el propósito de combatir inconvenientes con el hígado; de otro lado, el aceite de esta fruta conjuntamente con el aceite de la aceituna es utilizados para dolores provenientes de la artritis.

Mientras que en Haití y la zona occidental de la India, la guanábana, frecuentemente, se usa para jugos, de esta forma lidia con los parásitos, y la fiebre. De igual forma, las hojas de esta se utilizan como un sedante y para aliviar el asma, la gripe, hipertensión y otros. ^(31, 32, 33)

2.2.2. La piel

La morfología de la piel o macro estructura aparentemente es lisa y llana, pero en realidad es agrietado, con pliegues y surcos. Se define a la piel como el límite entre el medio exterior con el organismo. Esta tiene como principal objetivo conectar y adaptar al humano con su medio. La piel es muy extensa, por lo cual es denominado como el órgano más amplio, ya que puede expandirse de dos a doce metros cuadrados, de igual forma es el órgano más pesado, ya que tiene la capacidad de pesar hasta cuatro kilogramos. La piel tiene la particularidad de diferenciar entre una zona a otra, existen lugares

con mayor grosor, como es el caso de la planta de los pies y las palmas de las manos. Por otro lado, existen regiones que tiene una capa menos gruesa de piel como la región de los pliegues y párpados. ⁽³⁴⁾.

La piel está formada por 3 capas principales:

Epidermis: Es la capa más amplia y superficial de la piel, está conformada por un epitelio escamoso de grosor entre 0,05 a 1,5 mm. Encontramos en ella 4 capas que contienen diversos tipos celulares como son: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans, células de Merkel, células indeterminadas y células de Torkel ⁽³⁵⁾. Esta capa tiene la capacidad de no obstaculizar el circuito de la luz de forma parcial, si bien no posee vasos sanguíneos, le es posible obtener el oxígeno que necesita la piel con mayor profundidad en las capas. Se divide el diferente estrato: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo. ⁽³⁶⁾

Dermis: constituye la mayor región de piel, ya que conforma un fuerte soporte de la piel. La dermis está conformada por capas que no se están superpuestas, ya que constituyen un sistema enlazadas entre sí, embebidas de una sustancia denominada fundamental. Las diferentes clases de fibras que forman parte de escudo de la dermis que suman flexibilidad, elasticidad y tersura. Esto quiere decir que la dermis proporciona a la piel el colágeno (elemento fundamental en la dermis), fibras elásticas, y fibras de reticulita (se encuentran en las uñas, vasos sanguíneos y pelos). ⁽³⁶⁾

Histológicamente se divide en 2 capas:

Estrato papilar: esta región está conformado por el tejido conectivo laxo, fibras de colágeno tipo III, y asas capilares.

Estrato reticular: esta zona está compuesta por mastocitos, reticulocitos y macrófagos. En la parte inferior existe una zona lisa, la cual es parte del músculo pilo erector. En el área de la piel superficial prevalece el músculo estriado, ya que los músculos, ubicados en la mímica de la dermis, están fijados. ⁽³⁷⁾.

Hipodermis: tiene la característica de ser la porción más profunda de la piel. Está conformada por un gran número de células grasas, ya que su rol primordial está basado en separar el cuerpo del exterior. No obstante, la única región con la capa externa más amplia en la epidermis está ubicada la córnea. De otro lado, la hipodermis también conformar células muertas que luego serán sustituidas por células vivas, por lo cual, están en constante estado de descamación. Cabe destacar que, casi siempre, este proceso es imperceptible. De esta forma, las células de la piel están en constante renovación. La hipodermis está presente en casi toda la piel, excepto en las regiones que poseen mucosa, como los labios, vulva y otros. La principal función de esta hipodermis es servir de protector de la piel ante los males en el exterior, como es el caso de la: Rayos ultravioleta, deshidratación y otros factores dañinos para el cuerpo humano. ⁽³⁶⁾

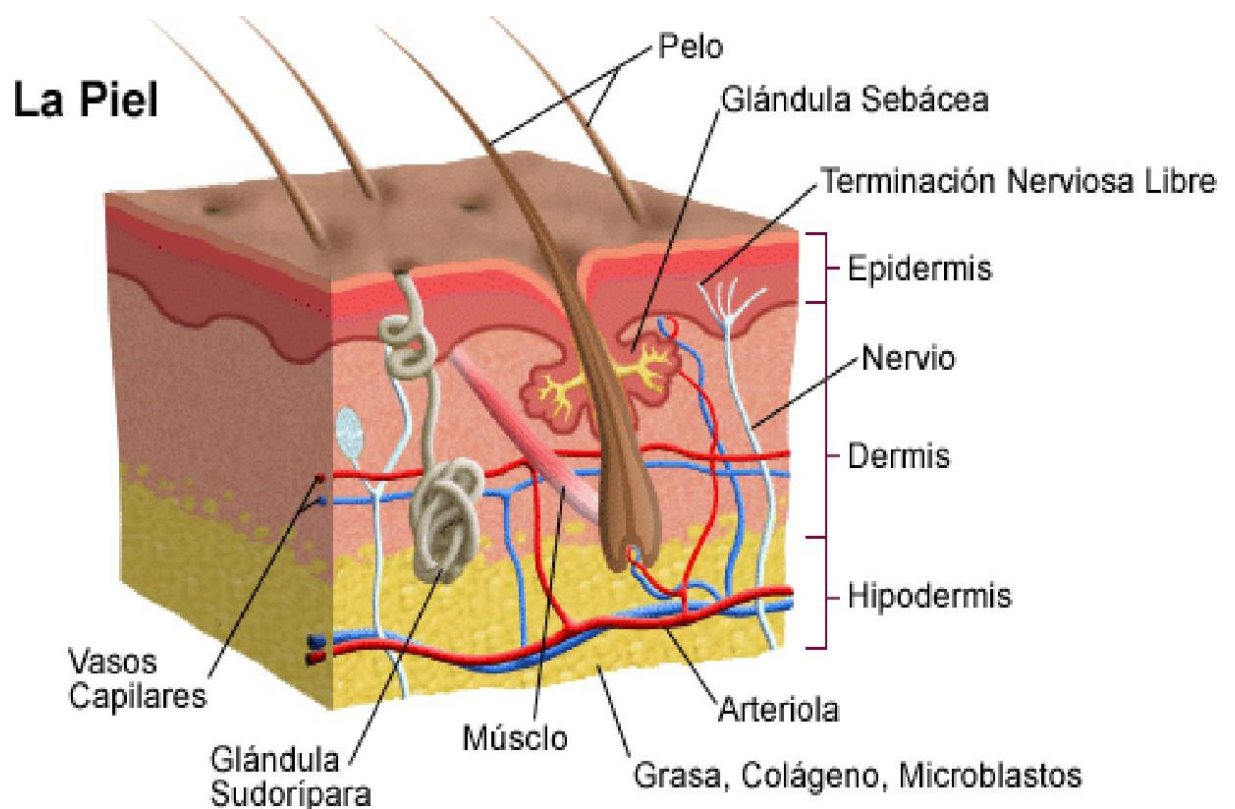


Figura N° 4: Anatomía de la piel

Fuente; Anatomía de la piel – Stanfors Children’s Health

2.2.3. Heridas

La definición de herida, establecida en el consenso de 1994, indica que es la totalidad de la disrupción del esquema funcional y anatómica. Se le denomina herida a toda lesión y alteración de la piel o mucosa accidental o intencional, que ocasione un desnivel en la coloración y características de los tejidos a simple vista. Generando así una herida y/o contusión de tipo agudo o crónico teniendo en cuenta que son de mayor prevalencia y aplicación clínica a tratar. Las heridas agudas ocurren de manera casual y podría curarse por sí misma o durar la lesión en corto periodo de tiempo. La piel solo tiene la capacidad de cicatrizar heridas ocurridas en tejidos,

más no de miembros u órganos del cuerpo. No obstante, la cicatrización no implica la regeneración del mismo tejido, sino de uno similar. ⁽³⁸⁾

Clasificación de heridas según el tiempo de cicatrización:

- **Heridas agudas:** Se da cuando se produce una fuerza traumática, casual o productor de operaciones en la piel. Por lo general, el tiempo de cicatrización es de siete a diez días en las personas adultas, en el caso de los niños, el tiempo es menor de siete días. ⁽³⁹⁾
- **Heridas crónicas:** Son ocasionadas por la disminución prolongada de la piel, asimismo hay una disminución de sustancias que producen una curación usual y que necesita de mucho tiempo para poder cicatrizar. ⁽⁴⁰⁾ El tiempo de cicatrización se prolonga hasta tres semanas; cuando el tiempo de cicatrización es mayor a un mes y medio es considerado como cronificado. ⁽⁴¹⁾

2.2.4. Cicatrización

La cicatrización de una herida es un proceso complicado que interfiere con la salud de la persona. La cicatrización, como proceso, está conformada por diversas reacciones, las cuales están sistematizadas, entre estos se encuentran los procesos biológicos, celulares y químicos, ya que estos tienen como función principal la restauración de la homeostasis alterada, sin embargo, la relación entre la eficiencia de estos procesos con la edad de los pacientes es indirectamente proporcional ⁽⁴²⁾.

Cicatriz: la cicatriz es el estado final y definitivo de la reparación que el organismo efectúa en una herida accidental, quirúrgica o producida por una afección ⁽⁴³⁾.

Fases de la cicatrización ⁽⁴⁴⁾ ⁽⁴⁵⁾

El origen de la cicatrización se da cuando se daña la consistencia física de este órgano. Estas etapas deben darse de manera consecutiva, es decir, en orden. La cicatrización se desarrolla en 4 etapas o también llamadas fases, las cuales se llaman: hemostasia, fase inflamatoria, fase proliferativa y fase de maduración.

Las fases de la cicatrización son las siguientes:

Hemostasia

El primer efecto, luego de un golpe o daño, se llama hemostasia, esta saturación ocasional se basa con vasoconstricción, luego habrá una activación dada en las plaquetas y las cascadas de la coagulación. Por lo tanto, se crea un muro que evitará la pérdida de fluidos y la contaminación ocasionada por bacterias.

Fase inflamatoria

Acto siguiente, se producirá la vasodilatación, unión de monocitos y de neutrófilos, esto ocasiona un incremento de la permeabilidad capilar. Durante esta etapa, se produce edema, signos cardinales de inflamación, lo cual ocasiona dolor.

Fase proliferativa

Durante esta etapa, los tejidos se van reemplazando, esto quiere decir que, las capas de piel irán regenerando. Además, los fibroblastos comienzan la síntesis de colágeno, este es el elemento esencial para reparación del tejido.

Fase de maduración y remodelación

La maduración es la última fase de la cicatrización, ya que durante esta se desechará el colágeno de la zona extracelular, por lo tanto, eliminarán las células inflamatorias. (46)

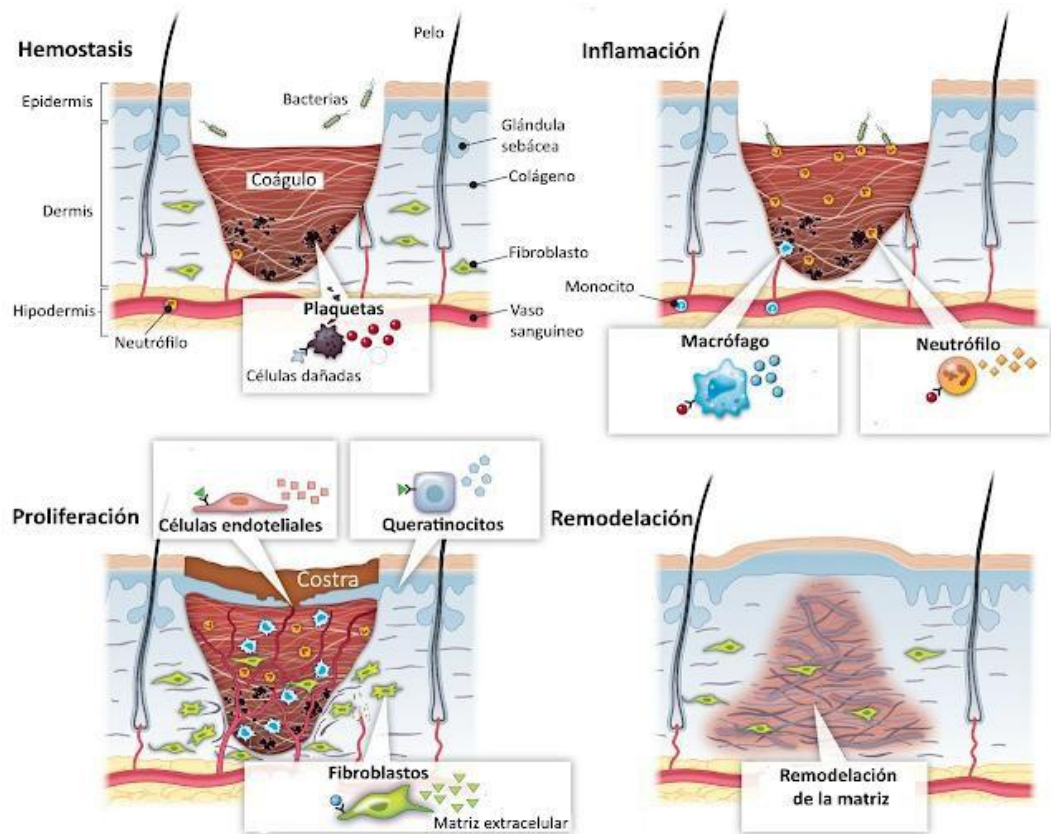


Figura N° 5: El Sistema tegumentario

Fuente: B.log.ia2.0 (Alda 2015)

Existe una característica importante en relación con las heridas cicatrizadas, ya que no pueden determinar al cien por ciento del sistema cualitativo que proviene del tejido intacto. Un factor determinante para acercar al tejido que no está dañado son: el estado de salud, profundidad, tipo de herida y zona de la piel dañada. La edad del paciente también es un factor importante, ya que el crecimiento y el aumento de fibroblastos influye en la cicatrización. Si la piel está en la fase de envejecimiento, es decir, tiene una

disminución sustancial de la elasticidad, entonces el proceso de cicatrización tardará, debido al daño ocasionado en la circulación producto del lento metabolismo.

Tipos de cicatrización

Tomando en cuenta el período y la forma en que ocurra la cicatrización existen 3 tipos de cicatrización:

Cicatrización por primera intención o primaria

Este tipo de cicatrización es la ideal y más sencilla, ya que los tejidos van a cicatrizar por unión primaria. La pérdida de tejido es mínima sin presencia de infección ni necrosis, presentando las siguientes características: cicatrización en un tiempo breve, sin secreción local, mínimo edema, sin separación de los bordes de la herida y con una mínima formación de cicatriz. ⁽⁴⁷⁾⁽⁴⁸⁾

Cicatrización por segunda intención o secundaria

Se da una cicatrización mucho más prolongada, lenta y complicada al producirse una mayor destrucción de células y tejidos. La herida va a cicatrizar desde los bordes y desde los estratos profundos. Generalmente se da lugar a tejido de granulación para que se logre una adecuada reparación, el cual contiene miofibroblastos. La herida cierra por contracción dejando una cicatriz poco estética. ⁽⁴⁹⁾⁽⁵⁰⁾

Cicatrización por tercera intención o terciaria

Método seguro de reparación de las heridas que se encuentran muy contaminadas o que tengan tejidos muy traumatizados. Se desarrolla una exhaustiva limpieza de la parte dañada, de esta forma retrasa la el cierre de la herida por un tiempo que va del tercer hasta el

séptimo día de sucedida la herida, de esta manera se cerciora un cierre de la herida sin complicaciones. ⁽⁴⁹⁾

2.2.5 Forma farmacéutica

Gel ⁽⁵¹⁾

Es una sustancia que no es ni tan líquida ni tan rígida, usualmente este no posee aceites grasos; tiene como propósito la aplicación en las membranas mucosas; de otro lado, no tiene la facultad de penetrar, por ello solo es de uso tópico.

Clasificación de los geles ⁽⁵¹⁾

a. Dependiendo de su comportamiento frente al agua:

Geles hidrófilos o hidrogeles. Están conformados por líquidos hidrofílicos, glicerina y agua. Estos elementos, con el propósito de convertirse en gel, se les añade almidón, goma tragacanto, polímeros carboxílicos y derivados de celulosa.

Geles hidrófobos o lipogeles (oleogeles). Están conformados por parafina líquida a la cual se la añade polietileno o aceites grasos, el cual es transformado en gel gracias al anhídrido silícico coloidal o por jabones de aluminio y zinc”

b. Según el número de fases en que están constituidos:

Geles monofásicos. La parte líquida del gel está conformada por líquidos miscibles, agua, alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.

Geles bifásicos. Están formados en dos etapas líquidas inmiscibles, esto origina una estructura transparente, la cual posee propiedades de semisólido.

Gel Cicatricure ⁽⁵²⁾

La fórmula clínicamente de Cicatricure gel para cicatrices estimula la regeneración de las fibras de colágeno del tejido cutáneo e hidrata la piel. Este gel está compuesto por los siguientes extractos:

- De *Allium cepa* “cebolla”.
- De *Chamomilla recutita* “manzanilla”.
- De *Thymus vulgaris* “tomillo”.
- De *Juglans regia* “nogal”.
- De *Aloe vera* “sábila”.
- De Concha de Nácar.
- De Centella asiática y aceite esencial de *Citrus aurantium bergamia* “bergamota”.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general:

El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante en ratas albinas.

2.3.2. Hipótesis específicas:

- ✓ Existen metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).

- ✓ existe una concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas.
- ✓ El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante comparado con Cicatricure gel en ratas albinas.

Variables

Tabla de operacionalización de variables

Tabla: N° 2: Operacionalización de variables

VARIABLE INDEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES
Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	Fitoquímico	Identificación de metabolitos secundarios Concentración: Control (-) Cicatricure (+) Extracto al 10% Extracto al 15% Extracto al 25%
VARIABLE DEPENDIENTE	DIMENSIONES	INDICADORES
Efecto cicatrizante	Farmacológico	Cambios en el diámetro de la herida incisa del lomo de la rata medido con un vernier :1cm a 2cm

Fuente: propia

2.4. Definición de términos básicos

Plantas medicinales. Los expertos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) la definen como toda especie vegetal, de la cual toda o una parte de la misma está dotada de una actividad farmacológica. ⁽⁵³⁾

Extractos hidroalcohólicos. Son productos que se obtienen de la extracción de la planta con una dilución de alcohol y agua, que permiten una muy buena obtención de principios activos, y que debe ser conservada en una concentración mayor al 15% del alcohol, para evitar la presencia de microorganismos. ⁽⁵⁴⁾

Compuestos fenólicos. Son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. ⁽⁵⁵⁾

Flavonoides. Son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C6 -C3 -C6'), compuesto por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. ⁽⁵⁵⁾

Antioxidante: Tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres y de esta forma impide los efectos dañinos que pueden ocasionar en el organismo ⁽⁵⁶⁾.

Cromatografía: técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla, la cual es transportada por una fase móvil a diferentes velocidades sobre una fase estacionaria produciéndose de esta manera la separación ⁽⁵⁷⁾.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación ⁽⁵⁸⁾

El estudio es de tipo explicativo porque se buscó responder el motivo de cómo el gel de *Annona muricata* L. puede lograr cicatrizar heridas superficiales. Responde a un diseño experimental y longitudinal. Experimental, porque se analizó la causa y efecto que genera las variables propuestas en el presente estudio. Para ello, se trabajó con grupos controles y se manipuló la variable independiente, para luego analizar las consecuencias de manipulación que se genera en la variable dependiente. Longitudinal, porque para obtener resultados se hicieron mediciones en diferentes momentos (días).

3.2. Población y muestra

Población:

- Se realizó el ensayo con la planta de *Annona muricata* L. (Guanábana), el modelo animal usado fue ratas albinas machos de cepa Holtzman de 230 a 250 gr. de peso adquiridas en la Universidad Peruana Cayetano Heredia

Muestra:

- Se trabajó con 500gr. de hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana), 25 ratas albinas, distribuidas en grupos de 5 ratas albinas de cepa Holtzman.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

Equipos:

Tabla N° 3: Equipos que se utilizaron para la investigación

EQUIPO	USO
Balanza gramera	Pesado de las ratas
Balanza analítica	Pesado de los estándares para CCF
Rotavapor	Destilación del alcohol en la muestra
Estufa	Extracto seco de la muestra
Plancha de calentamiento	Evaporar solvente de la CCF
Luz uv 254 – 366 nm	Visualizar las manchas de la CCF

Fuente: Elaboración propia

Materiales:

- Material estéril de Laboratorio
- Papel Kraft
- Matraz Erlenmeyer
- Embudo de vidrio
- Papel filtro
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Fiolas de 50 mL
- Peras de Bromo de 250 mL
- Estándar de Quercetina
- Estándar de Cafeína

Reactivos:

- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Dragendorff

- Reactivo de ácido Fosfowolframio o fosfotungstico “Scheibler
- Reactivo de Sonneschein
- Reactivo de Reineckato
- Reactivo de Shinoda (tiras de magnesio + ácido clorhídrico)
- Reactivo de Cloruro férrico
- Reactivo de Gelatina al 1%
- Hidróxido de sodio al 5% (reacción de Bortranger)
- Reactivo de Ninhidrina
- Reactivo de Lugol
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Alcohol de 96°
- Metanol
- Cloroformo
- Agua destilada
- Reactivo de tricloruro férrico de aluminio al 2%
- Acetato de sodio 1M
- Reactivo metanol – agua (25-75)
- Reactivo de BAW: butanol – agua – ácido acético glacial (4-3-1)
- Ácido sulfúrico 2N
- Hidróxido de sodio al 10%

3.4. Procedimiento experimental

La realización del proceso experimental se dividió en dos partes:

La primera parte, fue realizar la marcha fitoquímica, la prueba de solubilidad y la cromatografía en capa fina; y la segunda parte, consistió en el aspecto farmacológico donde se evidencio el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana).

El procedimiento experimental se llevó a cabo en los laboratorios y bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

Se cumplieron las siguientes etapas:

A. Recolección

La recolección de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) se realizó en un huerto ubicado en el Departamento de Lima, distrito de Lurigancho-Chosica, calle Los Tulipanes Mz.B. Lt.6. Carapongo (Anexo 2: Recolección de planta)

B. Preparación y obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Una vez obtenidas las hojas de *Annona muricata* L.(Guanábana) fueron separadas y puestas en papel kraft para luego ser llevadas a la estufa con aire recirculado para su sequedad a una temperatura de 40° C, por un tiempo considerable hasta que las hojas se puedan quebrar al solo tocar; una vez fragmentada las hojas estas fueron colocadas en un recipiente al que se agregó una mezcla de alcohol (70) – agua (30), es decir, una mezcla hidroalcohólica ;se dejó macerar por una semana con agitación constante y protegido de la luz; trascurrido este tiempo, se filtró con papel whattman N° 40 y luego puesto en un rotavapor para obtener un concentrado del extracto.

Una vez obtenido el concentrado del extracto se guardó una pequeña cantidad para hacer la marcha fitoquímica, el resto se llevó a sequedad a una estufa hasta la obtención de una melcocha, que luego servirá para hacer el gel respectivo.

La muestra se guardó a temperatura de 2 a 8° C hasta el momento de su utilización. (Anexo 3).

C. Prueba o marcha de solubilidad

Para la realización de esta prueba, se extrajo el extracto seco (melcocha) de refrigeración, se esperó que se temperara y con ayuda de una bagueta se colocó un poco de muestra en cinco tubos de ensayo y se procedió a verter 3 mililitros de los solventes que a continuación se menciona:

1. Tubo con muestra + Alcohol de 96°
2. Tubo con muestra + Metanol
3. Tubo con muestra + Cloroformo
4. Tubo con muestra + Agua destilada
5. Tubo con muestra + Isopropanol

D. Marcha fitoquímica

Para la realización del tamizaje fitoquímico se procedió a verter de 3 a 5 mililitros de la muestra a evaluar en tubos de ensayo, posteriormente se añadieron reactivos para la identificación de sus metabolitos específicos.

Cabe señalar que este estudio de identificación cualitativa es de reacciones de coloración y/o precipitación. ⁽⁵⁹⁾

Para la evaluación se hicieron pruebas para metabolitos primarios y secundarios, usando los siguientes reactivos:

Metabolitos primarios:

Glúcidos

Para la prueba de glúcidos se utilizan los reactivos de Fehling A y B la muestra que está en los tubos de ensayo se le agrega 1 mL de Etanol y se procede a verter 5 mL de cada reactivo de Fehling, acto seguido se lleva a baño maría. Para que la reacción sea positiva se observa un precipitado anaranjado ladrillo.

Almidón

Para la prueba de almidón se agrega de 2 a 3 gotas del reactivo de Lugol a la muestra, si esta presenta una coloración oscura se concluye que es positiva.

Cetonas

Para esta prueba a la muestra se le agrega 01 gota, será positiva si se observa un precipitado amarillo o naranja rojizo.

Metabolitos secundarios: ⁽⁵⁹⁾

- Alcaloides

Para la prueba de identificación de alcaloides se realizan ensayos generales como son (Wagner, Mayer, Dragendorff, Scheibler, Sonneschein y Reineckato).

Se considera que hay presencia de alcaloides si se obtienen cuatro resultados positivos de los ya citados.

Reactivo de Mayer. Es una mezcla de yoduro de mercurio y potasio; se pesan 1.36 gramos de cloruro de mercurio HgCl_2 en 60 mL de agua, por otro lado se pesa 5 gramos de ioduro de potasio KI en 10 mL de agua Teniendo los dos compuestos se mezclan y se lleva a volumen para 100 mL. , cuando se le añade tres o cinco gotas se pone de color crema o blanco.

Reactivo de Wagner. Es una mezcla de yodo – yoduro de potasio, se pesan 1.27 gramos de yodo I₂ más 2 .0 gramos de yoduro de potasio KI en 5 mL de agua, se lleva a volumen hasta 100 mL. Es de marrón en el momento en el que se agrega tres o cinco gotas de acidulada del extracto.

Reactivo de Dragendorff. Es una mezcla de yoduro de bismuto y potasio, se pesan 8 gramos de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de ácido nítrico; y 27.2 gramos de yoduro de potasio en 50 mL de agua. En el momento en el que agrega tres a cinco gotas de solución acidulada del extracto, entonces se pondrá de color rojo a naranja.

Reactivo de Scheibler. Es una mezcla de 100 gramos de tungtato de sodio más 70 gramos de fosfato dibasico de sodio en 500 mL de agua. Cuando se le añade de tres a cinco gotas, entonces adquiere un color blanco.

Reactivo de Sonneschein. En el momento en el que se añade de tres a cinco gotas, cambia de coloración a naranja.

Reactivo de Reineckato. Da un precipitado floculante color rosa cuando se agrega de tres a cuatro gotas.

- **Flavonoides y compuestos fenólicos.** ⁽⁵⁹⁾ Para los ensayos de los compuestos fenólicos y los flavonoides se tuvo en cuenta la reacción de Bortranger (hidróxido de sodio al 5%), Shinoda, cloruro férrico y gelatina al 1%. Cabe mencionar que el grupo de metabolitos contiene en su estructura a las antraquinonas y naftoquinonas. Asimismo, la prueba de gelatina al 1% es para taninos condensado es un flavonoide conocido como antocianidina y si es hidrolizables están conformados por ácidos fenólicos.

Reactivo de Shinoda. (Limaduras de magnesio + HCl concentrado), presenta una coloración de amarillo a rojo a magenta, en el caso de los flavanoles. Serán flavonas si se presenta una coloración roja, azul o violeta. Si en caso la coloración fuera amarilla, entonces sería isoflavonas. Se deduce que son isoflavononas, chalconas y auronas si en caso fueran incoloras.

Reactivo de Cloruro Férrico. (Cloruro férrico disuelto en agua), emanarán un color azul, verde o negro cuando se agrega de tres a cinco gotas, prueba general.

Reactivo de Gelatina al 1%. (Gelatina + cloruro de sodio), da un precipitado blanco cuando se agrega de 3 a 5 gotas, prueba para taninos.

Reactivo de hidróxido de sodio al 5%. Para detectar Antraquinonas y Naftoquinonas, se le añadirá de tres a cinco gotas y luego se pondrá de color rojo.

Reactivo de Ninhidrina. Es especial para la determinación de aminoácidos, después de calentar la muestra se observa un color rosado.

E. Prueba cromatográfica en capa fina

Se le denomina de esta forma a las técnicas de análisis básicas, ya que para la ejecución la muestra no debe ser mucha. Por lo general la utilizan para medir indicadores en los productos naturales. También es usado para el ensayo semicuantitativo contrastando el nivel de manchas vistas con estándares apropiados. La localización de estos elementos, de forma aislada, usualmente es producto de métodos particulares o generales, pues la luz ultravioleta detecta los compuestos que se encargan de absorber la longitud de onda larga 365 nm y de onda corta a 254 nm. ⁽⁶⁰⁾

Cromatografía para Alkaloides. Para la detección de alcaloides en una muestra homogénea se utilizó una fase móvil compuesta por Metanol – Agua en una proporción de (25-75), esta se preparó y vertió en una cubeta de separación y se dejó tapado por unos 10 minutos para que toda la cubeta se llene de sus vapores. Se utiliza la Silica gel y se siembra el estándar de Cafeína unos 5 µl también para la muestra. Se dejó reposar para luego ponerlo en la cubeta y esperar que corra las dos terceras partes de la placa. Una vez transcurrido el tiempo se llevó a una plancha de calentamiento para secar la placa y acto seguido se roció ácido sulfúrico 2N para luego evidenciar las manchas anaranjadas con el reactivo de Dragendorff.

Cromatografía para flavonoides. Para la detección de flavonoides se siguió el mismo plan para alcaloides, solo que la fase móvil consistió en una mezcla de butanol – agua – ácido acético glacial en una proporción de (4-3- 1), y nuestro revelador fue tricloruro de aluminio quien nos hizo ver manchas amarillas, presencia de flavonoides. El estándar a utilizar fue la Quercetina. (Anexo 9).

F. Determinación del efecto cicatrizante

Se evaluó en el presente estudio la determinación de la toxicidad aguda dermal en ratas, para determinar si el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) en sus diferentes concentraciones en un volumen de aplicación fijo causa mortalidad por la vía dermal en ratas de experimentación durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de observación.

Adicionalmente, se determinó la efectividad cicatrizante ante la producción de heridas incisas en ratas evaluando las áreas de cierre, frente a un tratamiento de 28 días, en aplicaciones diarias. La aplicación de la muestra se realizó tópicamente por la vía dermal. La medición del área de cierre de las heridas generadas se realizó al inicio del corte, a los 7, 14, 21 y 28 días.

Al final del ensayo, se analizaron estadísticamente el promedio de todas las áreas de cierre medidas. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) en presentación de gel, presenta efecto cicatrizante en el modelo estudiado a un volumen de aplicación de 0.5 ml, en los porcentajes de 10, 15 y 25 %.

G. Preparación de gel base de *Annona muricata* L.(Guanábana)

Para la preparación del gel se contó con los excipientes descritos en la tabla 7.

Tabla N° 4: Excipientes para la elaboración del gel

Gel Cicatrizante de Guanábana	
Insumos o Excipientes	Cantidad en porcentaje
Carbopol	0.5%
Propilenglicol	5.0%
Glicerina	1.0%
Metilparabeno	0.3%
Trietanolamina	0.5%
Agua csp.	100.0%

Fuente: Elaboración propia

La preparación consistió en diluir el Carbopol en agua a una temperatura de 50° C en una plancha de calentamiento a rotación constante, una vez disuelto el Carbopol se le añadió el Metilparabeno, Glicerina y el Propilenglicol se homogenizó bien y por último se agregó la Trietanolamina, formándose un gel espeso adecuado para nuestro propósito. Se hicieron pots de 100 gramos de gel y en concentraciones de 10%, 15% y 25%, utilizando las siguientes cantidades:

Tabla N° 5: Formulación del gel a base del extracto de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Formulación		
Concentraciones	Gel Cicatrizante	Cantidad de Activo
10%	100 gramos	10.0 g.
15%	100 gramos	15.0 g.
25%	100 gramos	25.0 g.

Fuente: Elaboración propia

Para la constitución del gel cicatrizante se tomó ciertos criterios tales como:

- **Carbopol:** polímero que no repele el agua, le da volumen a nuestro gel.
- **Trietanolamina:** le da la viscosidad por ser una amina terciaria, muy usado en la parte de cosmética por ser regulador del pH.
- **Propilenglicol:** es un líquido aceitoso que le da consistencia y preservante a la vez.

Ambiente de experimentación. El ensayo se realizó en la zona de experimentación del Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, ya que este ambiente cuenta con las características necesarias para realizar, de acuerdo a la guía de bienestar animal, los ensayos en ratas. Asimismo, los índices ambientales permitidos en el laboratorio para la ejecución del ensayo fueron los siguientes:

Temperatura (°C):	21.6
Humedad (%):	66%
Luz,Oscuridad:	12L: 12O

Animales de experimentación. Para esta fase fue necesario el uso de ratas albinas machos, *Rattus norvegicus*, cepa Holtzman, de dos meses, obtenidas del Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. El peso de estos animales fue entre 230- 250g.

Los animales se dividieron en grupos de experimentación de la siguiente manera:

Para la prueba de Toxicidad aguda dermal: 5 animales por cada concentración en una dosis máxima de 2000 mg/kg de peso corporal, en un volumen de aplicación de 1 ml, en dosis única.

Para la determinación del efecto cicatrizante: 3 grupos de 5 animales cada uno (por cada porcentaje de concentración) en total 15, adicionalmente 2 grupos de controles de 5 animales cada uno (un control positivo y uno negativo). En total 25 animales de experimentación para la determinación del efecto farmacológico.

Las ratas estuvieron en estado de cuarentena durante cinco días, con el propósito de adaptarse al ambiente y de esta forma no presente alteraciones tanto en el cuerpo como en su conducta.

Diseño Experimental

A. Toxicidad aguda dermal ⁽⁶¹⁾

24 horas antes del inicio del ensayo, los animales fueron depilados con una rasuradora eléctrica, en la parte del lomo. Este espacio de tiempo es útil a fin de que la piel del animal, no sufra alteraciones o inconvenientes de irritación. El procedimiento incluyó una dosificación de 2000 mg/kg de peso corporal, por cada porcentaje de concentración 10, 15 y 25 % a un máximo nivel de volumen de aplicación de 1 ml, por única dosis. Se observó si hubo mortalidad durante las primeras 72 horas, y luego hasta los 14 días de observación. Se observó además si se presentaron efectos adversos o signos de toxicidad. El tratamiento grupal se describe en la tabla 6:

Tabla N° 6: Tratamiento de experimentación en la toxicidad aguda dermal de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Grupo	Dosis (mg/kg)	N° de animales Machos	Peso (g)
10%	2000	5	234.50
15%	2000	5	238.92
25%	2000	5	244.19
Control negativo	Agua destilada	5	247.85

Fuente: Elaboración propia

B. Evaluación del efecto cicatrizante en ratas con el modelo del área de cierre de heridas incisas

Una vez aclimatadas, las ratas fueron rasuradas por el lomo consiguiendo una zona de piel expuesta, iniciándose con el corte que genere la herida incisa y además para la aplicación de las muestras. Esta depilación se realizó 24 horas antes, ya que la piel de los animales en este lapso de tiempo debe reposar y no presentar alteraciones

dérmicas de ningún tipo. Luego de la depilación los animales fueron asignados de acuerdo a los niveles de concentración. En la fecha programada del ensayo se anestesiaron los animales con un compuesto mixto de dos anestésicos: Xilacina (15 mg/kg) con Ketamina (40 mg/kg), antes y también durante la práctica de los cortes, manteniendo condiciones asépticas óptimas. Luego de la aplicación de la anestesia, se practicó las escisiones en la parte dorsal de los animales, en el marco metodológico descrito ⁽⁶²⁾ habiendo marcado previamente el área de la escisión (1X1) aproximadamente, continuando con la realización de los cortes superiores así como inferiores con el uso de un bisturí de material inoxidable. Se procedió a la ejecución de los cortes, con bisturí para delimitar el área y con tijeras estériles para la ejecución del corte (herida incisa) en el lomo de cada animal, con una profundidad de aproximadamente 0.2 cm (nivel subcutáneo). Luego de la generación de heridas, se realizó el tratamiento con la aplicación diaria de las muestras y con un volumen de aplicación sobre las heridas expuestas de 0.5 ml de cada preparación del gel de la muestra (10, 15 y 25%). De acuerdo a los grupos formados para el ensayo se aplicaron los tratamientos tópicamente por un periodo de 28 días. La medición de las áreas de cierre de las heridas, se realizaron a las 0, 7, 14, 21 y 28 días posteriores a la escisión inicial sobre la piel de las ratas. El ensayo comprendió un total de cinco grupos de experimentación. Los tratamientos y sus respectivos valores de concentración ensayados se detallan en la siguiente tabla:

Tabla N° 7: Grupos de tratamiento de experimentación con animales

Grupo	Animales	Porcentajes de preparación
Tto 1: Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L.	5	10 %
Tto 2: Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L.	5	15 %
Tto 3: Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L.	5	25 %
Control positivo (Cicatricure gel)	5	T/C
Control negativo	5	-

Fuente: Elaboración propia

Etapas en el proceso de anestesiado de las ratas de experimentación:

- Pesado de los animales para una óptima dosificación.
- Preparación de las dosis a administrar, de acuerdo a los pesos corporales.
- Las dosis para administrar se componen de Ketamina (40 mg/kg) y Xilacina (15mg/kg).
- Asegurar una eficaz administración, ejerciendo presión negativa sobre el émbolo de la jeringa, descartando la salida de sangre, contenido intestinal, etc. Siendo la intraperitoneal la vía de administración.
- La administración se realizó en la cavidad abdominal lateral a la línea media.
- El efecto tiene una duración aproximada de 30 a 120 minutos.

Condiciones de ensayo

Las condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo durante el transcurso de la experimentación se registraron en los siguientes rangos: temperatura = $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$; humedad = $< 70 \%$; 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El consumo de agua y alimento fue ad libitum.

3.5 Procesamiento de datos

Se recolectaron los datos obtenidos del efecto cicatrizante, los cuales fueron transferidos al Excel para su análisis estadístico. Las pruebas que se hicieron dieron a conocer que los grupos ensayados presentan diferente disminución del área de cierre; esto se obtuvo aplicando el estadístico de Anova (Análisis de Varianza), para saber si las dosis ensayadas tuvieron efecto cicatrizante en sus tres concentraciones se hizo el estadístico de Tukey, donde nos muestra que la diferencia de las medias de los grupos son mayores a la diferencia honestamente significativa; por ende, las dosis tuvieron efecto cicatrizante. Las diferentes medidas de cierre se expresan en porcentajes a partir del control positivo con Cicatricure. Estos porcentajes son representados en gráficos de barras. Cabe mencionar que se trabajó a un nivel de confianza del 95%, por eso nuestro P (probabilístico) debe de ser menor al 0.05 (5%).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Presentación

A. Resultados de Marcha de solubilidad

La marcha de solubilidad nos indicó en qué solventes es más soluble la muestra teniendo en cuenta la polaridad del disolvente ya que esta le da propiedades de solubilización en diferentes solutos. Se observaron los siguientes resultados:

Tabla N° 8: Resultados de la marcha de solubilidad

ITEM	SOLVENTES	Guanábana
1	Alcohol 96°	+++
2	Metanol	+++
3	Cloroformo	-
4	Agua destilada	++
5	Isopropanol	-

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (-) es No soluble; (+) es poca solubilidad; (++) moderada solubilidad; (+++) altamente soluble.

B. Resultados de marcha fitoquímica para metabolitos primarios

Tabla N° 9: Resultados de marcha fitoquímica para metabolitos primarios

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS PRIMARIOS		
Metabolitos Primarios	Reactivo de identificación	Resultado para “Guanábana”
Glúcidos	Fehling A y B	Precipitado anaranjado ladrillo (+++)
Almidón	Lugol	Coloración oscura (-)
Cetona	2,4 DNPH	Precipitado amarillo o naranja (+)

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (-) No se evidencia; (+) se evidencia poco; (++) moderada evidencia; (+++) evidencia notable.

C. Resultados de la marcha fitoquímica para metabolitos secundarios

Tabla N° 10: Resultados de la marcha fitoquímica para metabolitos secundarios

IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivo de identificación	Resultado para “Guanábana”
Alcaloides	Mayer	Precipitado blanco (+)
	Wagner	Precipitado marrón (+++)
	Dragendorff	Precipitado rojo o naranja (+++)
	Scheibler	Precipitado o Color blanco (+)
	Sonneschein	Precipitado naranja (-)
	Reineckato	Color rosa (++)
Compuestos fenólicos y Flavonoides	Shinoda	Color rojo (+++)
	Cloruro férrico	Color verde (+++)
	Gelatina al 1%	Precipitado blanco (+++)
	Reacción de Bortranger	Color rojo (+)
Aminoácidos	Ninhidrina	Color rosado (+++)

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (-) No se evidencia; (+) se evidencia poco; (++) moderada evidencia; (+++) evidencia notable.

D. Resultados de cromatografía en capa fina para alcaloides y flavonoides

La muestra en análisis de guanábana dio positivo para alcaloides, La presencia de manchas anaranjadas nos da la certeza de que es alcaloide, confirmándolo con el estándar tratado.cabe decir que es una confirmación de la marcha fitoquímica.

Con respecto a la cromatografía para flavonoides nuestro revelador fue tricloruro de aluminio quien nos hizo ver manchas amarillas evidenciando la presencia de flavonoides. El estándar a utilizar fue la Quercetina. (Anexo 9)

E. Resultados toxicidad aguda dermal

En relación a la toxicidad aguda dermal, las muestras en los porcentajes de concentración de 10, 15 y 25 % a la dosis máxima de 2000 mg/kg de peso corporal no produjeron mortalidad en el volumen aplicado sobre la piel durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de evaluación del ensayo. No se produjeron signos adversos ni alteraciones conductuales ni fisiológicas, ni pérdida de peso corporal al término de la prueba. (Ver Tabla N° 11)

Tabla N° 11. Resultados de la toxicidad aguda dermal de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Grupo	Dosis (mg/kg)	Animales	Mortalidad
10 %	2000	5	0/5
15 %	2000	5	0/5
25 %	2000	5	0/5
Control negativo	Agua destilada	5	0/5

Fuente: Elaboración propia

En la tabla N° 11 se observa que no hubo mortalidad en ninguno de los grupos de tratamiento.

F. Resultados efecto cicatrizante del gel de *Annona muricata* L. (Guanábana)

En relación al efecto cicatrizante, las muestras del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) en sus diferentes porcentajes de 10, 15 y 25%, con un volumen de aplicación de 0.5 ml presentan los siguientes resultados. (Ver Tabla 12).

Tabla N° 12: Resultados del efecto cicatrizante del gel de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Grupo	Concentración (%)	Área de cierre de herida (cm ²) Promedios \pm D.S.					Nivel de significancia	Porcentaje de efectividad al término del tratamiento
		0 días	7 días	14 días	21 días	28 días		
Gel a base del Extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	25	0.9940 \pm 0.0055	0.9082 \pm 0.0160	0.5407 \pm 0.0399	0.2099 \pm 0.0148	0.0689 \pm 0.0101	*p < 0.05	93.07
	15	0.9940 \pm 0.0055	0.9197 \pm 0.0207	0.6096 \pm 0.0604	0.3387 \pm 0.0492	0.1921 \pm 0.0182	*p < 0.05	80.68
	10	0.9920 \pm 0.0083	0.9487 \pm 0.0107	0.7817 \pm 0.0325	0.5909 \pm 0.0573	0.3163 \pm 0.0302	*p < 0.05	68.11
Control Positivo	Cicatricure	1.0000 \pm 0.0000	0.7658 \pm 0.0297	0.0155 \pm 0.0058	0.0048 \pm 0.0033	0.0006 \pm 0.0003	*p < 0.05	99.94
Control Negativo	Agua destilada	0.9960 \pm 0.0055	0.9546 \pm 0.0224	0.8798 \pm 0.0156	0.8301 \pm 0.0312	0.7229 \pm 0.0413		27.43

*p < 0.05 existen diferencias significativas con respecto al control negativo

Fuente: Elaboración propia

Las muestras en presentación de gel del extracto hidroalcohólico en estudio, presentan efecto cicatrizante en las tres concentraciones (10, 15 y 25%) en el modelo estudiado, ante la evolución del área de cierre de las heridas incisas producidas sobre la piel de ratas, durante los 28 días de tratamiento donde la mejor efectividad se

encuentra en el siguiente orden: 25, 15 y 10%, dándose un efecto dependiente de la dosis. Se observó que se producen diferencias significativas con respecto al control, en las concentraciones con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Se aplicó ANOVA, para establecer que sí existían diferencias estadísticamente significativas con respecto al control y de ahí el Test de Tukey. Las muestras presentaron los siguientes porcentajes de efecto cicatrizante. (ver tabla 13 y figura 6).

Tabla N° 13: Porcentaje del efecto cicatrizante del gel de *Annona muricata* L. (Guanábana)

GRUPO	% EFECTIVIDAD
Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L. 25 %	93.07
Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L. 15 %	80.68
Gel extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L. 10 %	68.11
Control (+)	99.94
Control (-)	27.43

Fuente: Elaboración propia

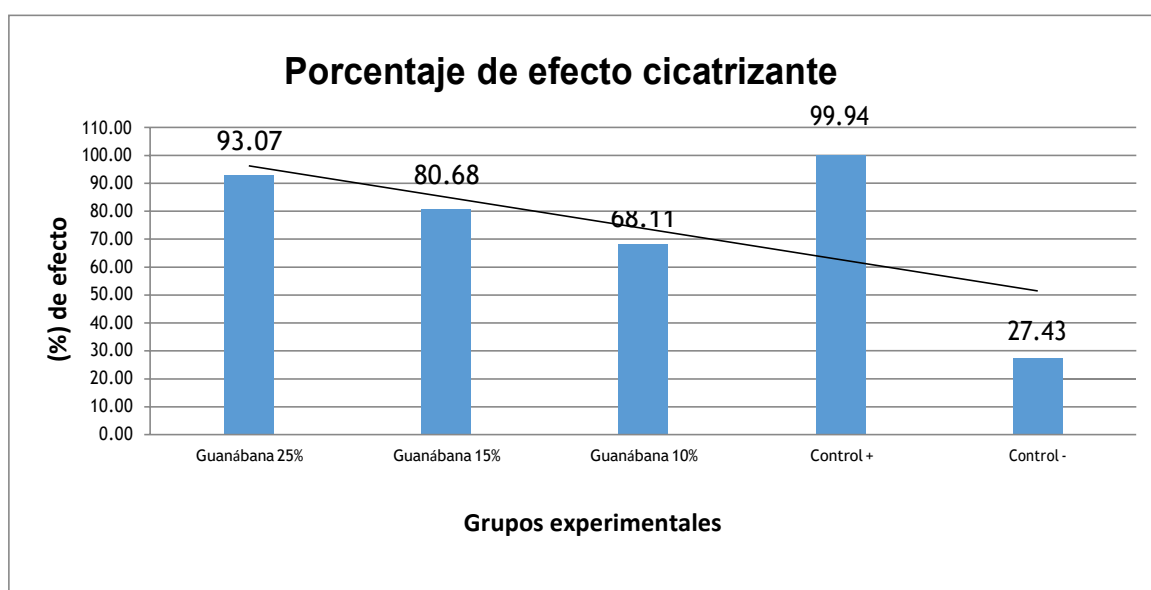


Figura N° 6: Efecto cicatrizante del gel de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Fuente: Elaboración propia

4.2 Contrastación de la hipótesis

Hipótesis específicos 1

Existen metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).

Hipótesis nula (H0): No existen metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).

Hipótesis alterna (H1): Si existen metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana).

Tabla N° 14: Metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)

METABOLITOS SECUNDARIOS	
FLAVONOIDES	+++
TANINOS	+++
ALCALOIDES	+++

Fuente: Elaboración propia

Leyenda: (-) No se evidencia; (+) se evidencia poco; (++) moderada evidencia; (+++) evidencia notable.

En la tabla N°14, se muestran los resultados de la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) constatando la presencia de Alcaloides, flavonoides y taninos, con esto podemos afirmar y dar validez a lo planteado y aceptar la hipótesis alterna, por ende, hay evidencia de metabolitos secundarios.

Decisión: por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.

Hipótesis específicos 2

Existe una concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas.

Hipótesis nula (H0): No existe una concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas.

Hipótesis alterna (H1): Si existe una concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas.

Tabla N° 15: Área de cierre de las tres concentraciones

Área de cierre de herida (cm ²)									Porcentaje de Efectividad
Grupo	Concentración	N° de rata	Incisión	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días	
Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	25%	1	Area	1.0000	0.9120	0.5402	0.2303	0.0756	92.44
		2	Area	0.9900	0.9312	0.6083	0.1980	0.0702	92.91
		3	Area	0.9900	0.9120	0.5112	0.2024	0.0812	91.80
		4	Area	0.9900	0.8930	0.5328	0.2208	0.0600	93.94
		5	Area	1.0000	0.8930	0.5112	0.1980	0.0575	94.25
		Promedio		0.9940	0.9082	0.5407	0.2099	0.0689	93.07
		Desviación Estandar		0.0055	0.0160	0.0399	0.0148	0.0101	
	15%	1	Area	0.9900	0.9408	0.6723	0.3904	0.1763	82.19
		2	Area	1.0000	0.9312	0.6083	0.3770	0.1935	80.65
		3	Area	0.9900	0.9312	0.5112	0.3306	0.2208	77.70
		4	Area	1.0000	0.8930	0.6399	0.3304	0.1935	80.65
		5	Area	0.9900	0.9024	0.6162	0.2652	0.1763	82.19
		Promedio		0.9940	0.9197	0.6096	0.3387	0.1921	80.68
		Desviación Estandar		0.0055	0.0207	0.0604	0.0492	0.0182	
	10%	1	Area	0.9900	0.9604	0.8099	0.6723	0.3422	65.43
		2	Area	1.0000	0.9506	0.7310	0.5852	0.3363	66.37
		3	Area	0.9801	0.9312	0.7743	0.5852	0.2860	70.82
		4	Area	0.9900	0.9506	0.8099	0.6004	0.3363	66.03
		5	Area	1.0000	0.9506	0.7832	0.5112	0.2808	71.92
		Promedio		0.9920	0.9487	0.7817	0.5909	0.3163	68.11
		Desviación Estandar		0.0083	0.0107	0.0325	0.0573	0.0302	

Fuente: Elaboración propia

Según los resultados de tabla N° 15, se observa que la concentración al 25 % presenta 93.07 % de efecto cicatrizante siendo esta la concentración óptima.

Tabla N° 16: Análisis de estadístico de Tukey

Estadístico de Tukey		
HSD	0.047	(Diferencia honestamente significativa)
Mul	4.23	(Valor Q alfa de la prueba de Tukey)
Mse	0.0006	(Cuadrado del valor medio)
n	5	(Tamaño de muestra de cada uno de los grupos, número de elementos de cada grupo)

HSD	0.047
------------	--------------

	Control Negativo	Concentración al 10%	Concentración al 15%	Concentración al 25%	Cicatricure
Control Negativo		0.4066	0.5308	0.6540	0.7223

El grupo al 25% presentan al final de la prueba con respecto al control negativo mayor disminución del área del cierre, como se puede ver en la tabla N°16 ,Este estadístico determina los resultados de Tukey y basándonos en el criterio de aceptación que dice que los valores mayores al HSD son los que hacen la diferencia.

Decisión: se procede a rechazar la hipótesis nula (Ho), se acepta la hipótesis alterna (H1).

Hipótesis específicos 3

El gel a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) presenta efecto cicatrizante comparado con Cicatricure gel en ratas albinas.

Hipótesis nula (H0): El gel a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) no presenta efecto cicatrizante comparado con Cicatricure gel en ratas albinas.

Hipótesis alterna (H1): El gel a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) si presenta efecto cicatrizante comparado con Cicatricure gel en ratas albinas.

Si $p < 0.05$ entonces se cumple la H_1 , Si $p > 0.05$ entonces se cumple la H_0 .

Tabla N° 17: Área de cierre de herida

Grupo	Concentración (%)	Área de cierre de herida (cm ²) Promedios \pm D.S.					Nivel de significancia	Porcentaje de efectividad al término del tratamiento
		0 días	7 días	14 días	21 días	28 días		
Gel a base del Extracto hidroalcohólico de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	25	0.9940 \pm 0.0055	0.9082 \pm 0.0160	0.5407 \pm 0.0399	0.2099 \pm 0.0148	0.0689 \pm 0.0101	*p < 0.05	93.07
	15	0.9940 \pm 0.0055	0.9197 \pm 0.0207	0.6096 \pm 0.0604	0.3387 \pm 0.0492	0.1921 \pm 0.0182	*p < 0.05	80.68
	10	0.9920 \pm 0.0083	0.9487 \pm 0.0107	0.7817 \pm 0.0325	0.5909 \pm 0.0573	0.3163 \pm 0.0302	*p < 0.05	68.11
Control Positivo	Cicatricure	1.0000 \pm 0.0000	0.7658 \pm 0.0297	0.0155 \pm 0.0058	0.0048 \pm 0.0033	0.0006 \pm 0.0003	*p < 0.05	99.94

Fuente: Elaboración propia

Para demostrar la validez de una de estas dos hipótesis revisamos la tabla N° 17, donde nos muestran los resultados a lo largo de todo el proceso de cicatrización que fue de 28 días, ahí queda demostrado que gel a base del extracto hidroalcohólico de *Annona muricata* L. (Guanábana) en sus tres concentraciones de 10%, 15% y 25% tienen efecto cicatrizante en comparación con Cicatricure gel.

Pero para saber que las concentraciones son independientes en sus tres concentraciones junto con el control positivo, se hace el estadístico de Anova de un factor. En la siguiente tabla de Anova se ve la diferencia:

Tabla N° 18: Análisis de ANOVA

Análisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de los cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Ent. Grupos.	1.629396	4	0.4073	666.7774217	2.7002 E-21	2.866081
Dent. Grupos.	0.012218444	20	0.0006			
Total	1.641614962	24				

La tabla N° 18, de Análisis de ANOVA nos demuestra que todos o al menos uno de los grupos presentan diferente disminución del área de cierre y esto es debido a que el F experimental es mayor al F crítico y que la probabilidad de error es menor a 0.05.

Decisión: se obtuvo un nivel de significancia menor a 0,05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna

4.3 Discusión

Al realizar la marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de la hojas de *Annona muricata* L.(guanábana) se evidencio la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides ,taninos y alcaloides a los cuales se les atribuye la actividad cicatrizante ,estos resultados concuerdan con lo demostrado por **Santamaría, E. (2014)** ⁽¹⁹⁾ en su tesis de investigación “Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*) donde se obtuvieron los siguientes resultados: el extracto de malva y aguacate poseen actividad cicatrizante efectiva, en un tiempo de siete días producto de la existencia de flavonoides y taninos en la malva y en el aguacate taninos. Se concluyó que los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*Persea americana*) poseen actividad cicatrizante.

El ensayo de toxicidad aguda dermal determinó que el extracto hidroalcohólico a concentraciones de 10, 15 y 25 por ciento no produjeron mortalidad en el volumen aplicado sobre la piel durante las primeras 72 horas hasta los 14 días de evaluación del ensayo. No se produjeron signos adversos ni alteraciones conductuales ni fisiológicas, ni pérdida de peso corporal al término de la prueba.

Estos resultados se comparan con la investigación de **Poma, E. et al. (2011)**. ⁽¹⁵⁾ En el “Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la

Annona muricata L. (Guayaba) de Cuzco en la cual concluyo que el extracto acuoso no es tóxico, de acuerdo al método de dosis límite para la identificación de toxicidad aguda, En el ensayo de toxicidad aguda no se produjeron muertes ni signos de toxicidad posteriores a la administración.

Según los resultados obtenidos (tabla N°12). A partir del día siete de tratamiento se observó un mínimo efecto cicatrizante, sin embargo a partir del día catorce hacia adelante se empieza a evidenciar notoriamente el efecto cicatrizante de las tres concentraciones del gel a base del extracto hidroalcoholico de las hojas de *Annona muricata* L., el cual aumenta al transcurrir los días, siendo la concentración al 25% el que presento mayor efecto cicatrizante a un 93.07 % a los 28 días de tratamiento, estos resultados son comparable a los hallados por **Moghadamtousi, SZ. et al. (2015).** ⁽¹⁶⁾ En el estudio "Las hojas de *Annona muricata* L., aceleran la cicatrización de heridas en ratas mediante la participación de Hsp70 y la defensa antioxidante" donde se evaluó el potencial de curación de heridas del extracto de acetato de etilo de hojas de *Annona muricata* (EEAM) hacia modelos de heridas por escisión en ratas dando como resultado que la administración de EEAM (5% y 10%) y el control positivo al cabo de 15 días provoco el cierre de la herida en 69%, 77% y 81%, respectivamente.

En nuestra investigación el efecto cicatrizante se evidencio con el área de cierre estadísticamente significativo donde se demuestra que las concentraciones al 10,15 y 25 % disminuyo el tamaño de la herida incisa de 1cm a 0.32cm, 0.19 cm y 0.07 cm respectivamente, estos resultados se asemejan a la investigación de **Diaz, J y Vargas, H. (2017).** ⁽¹³⁾ "Efecto cicatrizante del gel elaborado a base de la tintura de *Verbena officinalis* "verbena" en *Rattus rattus* variedad albinus". En el cual concluye que el gel elaborado a base de la tintura de *Verbena officinalis* "verbena" a concentraciones de 5 %, 10 % y 20 % en *Rattus rattus* variedad *albinus* disminuyó el tamaño de herida de 1 cm a 0,98 cm, 0,88 cm y 0,78 cm respectivamente en los diferentes grupos problema.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones:

1. El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) presentan metabolitos secundarios como taninos, flavonoides y alcaloides, posibles responsables del efecto cicatrizante.
2. El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) a la concentración de 25% presenta mayor efecto cicatrizante.
3. El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L (Guanábana) presenta efecto cicatrizante al 93.07% comparado con Cicatricure gel que obtuvo 99.4%.

5.2 Recomendaciones:

1. Aislar y cuantificar los distintos flavonoides de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) y determinar su efecto cicatrizante.
2. Complementar la investigación del efecto cicatrizante de *Annona muricata* L. (Guanábana) realizando estudios histopatológicos.
3. Realizar estudios de actividad sinérgicas con extractos alcohólicos para evaluar el efecto cicatrizante.

REFERENCIAS

1. PAMO – REYNA O. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. (Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.). Vol. 26., No 3. Lima.
2. CASTRO, Dagoberto y otros. Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales. 2a ed. Antioquia-Colombia. Rionegro. 2013, Pp. 75-80
3. Dorvigny BM, Sánchez LM, Díaz S, Bulnes C, Ivis A, Escobar A, et al. Efecto cicatrizante de la pasta de clorofilacaroteno de *Pinus caribaea* var. *caribaea* sobre heridas abiertas asépticas. Rev Cuba Plantas Med. 2011; 16(1):24–33.
4. Rubio Quezada Cinthya “Elaboración de una crema cicatrizante a base del extracto de la pulpa de aguacate (*Persea americana* Mill), Machala 2014.
5. Ochoa, J. Conceptos actuales en cicatrización queloide. Rev Sanid Milit Mex 2008; 9962 (2) Mar-Abr 97-101
6. Bayat A, McGrouther DA. "Cicatrices Cutaneas British Medical Journal 326:88- 92, Ene 2003
7. Scarlet Maussiel Hernández Dávila "Terapia con Láser CO2 fraccionado en pacientes con cicatrices atróficas e hipertróficas tratados en el Centro Nacional de Dermatología en el periodo de Mayo 2014 a Septiembre" <http://repositorio.unan.edu.ni/1553/1/92518.pdf>
8. GUEVARA L. Plantas medicinales. 1ª ed. Cusco: Centro de estudios regionales andinos “Bartolomé de las Casas”; 1989.
9. ARÉVALO G. Las plantas medicinales y su beneficio en la Salud. 1ª ed. Lima: Ed AIDSESEP; 1994. <http://www.cidermperu.org/fofia/pdf/f0234.pdf>
10. Soheil Zorofchian Moghadamtousi y otros “*Annona Muricata* (Annonaceae): Una revisión de sus usos tradicionales, acetogeninas aisladas y actividades biológicas”. 2015 JULIO Disponible en 10.3390/ijms160715626.

11. Gallardo, G, y Barboza L.” Efecto cicatrizante del gel elaborado del látex de *Croton lechleri* "Sangre de Drago",
12. Pichilingue, M “Efecto cicatrizante de una crema dérmica formulada con la tintura Árnica montana "Árnica" en heridas inducidas en el lomo de ratones albinos y comparación con el "Hipoglos crema" 2015
13. DIAZ, J Y VARGAS, H., “Efecto cicatrizante del gel elaborado a base de la tintura de Verbena officinalis “verbena” en *Rattus rattus* variedad albinus”
14. Juro S y Otros 2010; Efecto cicatrizante de las diferentes formas farmacéuticas tópicas elaboradas con el extracto hidroalcohólico de *Juglans neotropica* Diels “nogal” en ratones albinos
15. Poma E, y otros “Estudio fitoquímico y actividad antiinflamatoria de la *Annona Muricata* L. (Guanábana) de Cuzco”
16. Moghadamtousi SZ y otros, Las hojas de *Annona Muricata* L., aceleran la cicatrización de heridas en ratas mediante la participación de Hsp70 y la defensa antioxidante.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25899210>
17. Proaño J, et al 2013 “Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de los extractos hidroalcohólicos de Romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de caballo (*Equisetum arvense*) en ratones (*Mus musculus*) en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.”
18. Patricia Vit, Bertha Santiago y Elizabeth Mariana Pérez-Pérez, Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana (*Annona Muricata* L) Venezuela 2014
19. Santamaría E, “Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de Malva (*Malva sylvestris* L.) y Aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*) ,Ecuador 2014
20. Cabezas G, “Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*tropaeolum majus*) en ratones (*mus musculus*)”, Ecuador 2015
21. Moreno M. La Guanábana: producto de exportación. Rev. AZ Gest. 2012; 8: 12-13.

22. Soheil M, y otros "*Annona muricata* (Annonaceae): una revisión de sus usos tradicionales, acetogeninas aisladas y actividades biológicas" Publicado: 10 de julio de 2015, Disponible en :<http://www.mdpi.com/1422-0067/16/7/15625/htm>
23. Adewole, SO; Caxton-Martins, EA Cambios morfológicos y efectos hipoglucemiantes de *Annona muricata* Linn (Annonaceae) extracto acuoso de hoja en células B pancreáticas de ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina. *Afr. J.Biomed. Res.* 2006, 9, 173-187. [Google Scholar] [CrossRef]
24. Palomino CH, "Efecto del extracto etanólico de hojas *Annona Muricata* L. ("guanábana") sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas" en el Perú,
25. MAHABIR, P., Plantas Medicinales Iberoamericanas., Santa Fe de Bogotá-Colombia., Editorial Converse., 1995., Pp. 26-27.
26. Composición química de la guanábana; <http://www.yerbasana.cl/?a=364>.
27. ALONSO, J., Tratado de fitofármacos y nutracéuticos, Rosario - Argentina., Corpus., 2004., Pp. 641- 646, 927-930,1037-1041.
28. Flórez, Yesid, Martínez, Elizabeth. Obtención y Evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* L., de la región cafetera.<http://repositorio.utp.edu.co/tesisdigitales/texto/63441F634.pdf>.
29. Ambiga S, Narayanan R, Gowri D, Sukumar D, Madhavan S. EVALUATION OF WOUND HEALING ACTIVITY OF FLAVONOIDS FROM IPOMOEA CARNEA Jacq. *Ancient Science of Life* 2007; 26(3):45-51.
30. Vargas KFR. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*). Riobamba- Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo 2012.
31. Brack E. "Diccionario Enciclopédico de Plantas Útiles del Perú".Cusco;1996
32. Recursos Naturales [http:// www.minag.gob.pe/rrnn_guanabana.shtml](http://www.minag.gob.pe/rrnn_guanabana.shtml)
33. Branch, L.C. and da Silva, I.M.F. "Folk Medicine of Alter do Chao, Para, Brazil." *Acta Amazónica.* 1983; 13: 737-797.

34. Huether S. Understanding Pathophysiology. 5ta ed. Ed Mosby. San Louis: 2013. http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/01/877266/efecto-terapeutico-del-extracto-etanolico-de-las-hojas-de-oenot_sgljslC.pdf
35. Craww, C.; Stitz, R. (1984). "Farmacología Médica". México: Nueva Editorial Interamericana. p 201.
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6470/Herrera_m_s.pdf?sequence=1&isAllowed=y
36. Muñoz MJ. Hidratación cutánea. Ámbito farmacéutico. Dermofarmacia. Offarm. Vol. 27 núm. 11 diciembre 2008
37. Ganong, W. (1998). "Fisiología Médica". 16ª Edición. Ciudad de México: El Manual Moderno S A. p 358.
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/6470/Herrera_m_s.pdf?sequence=1&isAllowed=y
38. RIVERA, E. 2004. Fisiología de la cicatrización. [En línea):
medicosecuador([http://www.medicosecuador.com/librosecnq/articuloss/1/fisiologia de la cicatricacion.htm](http://www.medicosecuador.com/librosecnq/articuloss/1/fisiologia%20de%20la%20cicatricacion.htm), documentos, 20 setiembre 2012)
39. Vallejo, J.C.B. 2008, Cuaderno enfermero sobre cirugía menor, heridas y suturas, Ilustre Colegio Oficial de Enfermería de Jaén.
40. Hernández, L., Piedad, M., Hernández Cano, R.M. & Soria Suárez, M.I. 2014, "Heridas crónicas atendidas en un servicio de urgencias", Enfermería Global, vol. 13, no. 35, pp. 23-31.
41. Cacicedo González, R., Castañeda Robles, C., Cossío Gómez, F., Delgado Uría, A., Fernández Saíz, B. & Gómez España, M. 2011, "Manual de prevención y cuidados locales de las heridas crónicas", SCS.
http://tauja.ujaen.es/jspui/bitstream/10953.1/6328/1/TRABAJO_FIN_DE_GRADO_Ana_Perez_Reyes.pdf
42. Valencia, C. 2010. Cicatrización: proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. Fundación Universitaria del Área Andina-Pereira. Bogotá, Colombia. vol.12, no.20 pp. 85-98. ISSN 0124-8146.
<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/141838/Efectos-comparativos-de-dos-dominios-derivados-de-calreticulina-de-Trypanozoma-cruzi-en-ensayos-de-curacion-de-heridas-in-vitro.pdf?sequence=1>

43. Cintrón-Machón, Gustavo, Poveda-Xatruch, Juan, La cicatrización queloide. Acta Médica Costarricense [en línea] 2008, 50 (Abril-Junio): [Fecha de consulta: 9 de febrero de 2019] Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=43411756004>>ISSN 0001-6002
44. Ethicon Wound Closure Manual. Foundation Dr. Jordi Mas. [internet]. [Consultado 2012 junio 15]. Disponible en:
http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf
45. Benavides, J. Reparación de heridas cutáneas. Revista de la asociación colombiana de dermatología. 2008; 16(1): 29-35.
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/4262/Obando_bl.pdf?sequence=1&isAllowed=y
46. El sistema tegumentario. B.log.ia2.0 (Alda, 2015) <http://b-log-ia20.blogspot.com/2015/12/el-sistema-tegumentario.html>
47. Tovar, Ricardo. Cicatrización por primera intención postodontectomia del tercer molar inferior retenido estudio comparativo entre dos tipos de incisión. (Tesis) (Dr) Universidad Central de Venezuela, Facultad de Odontología, Escuela de Odontología. Caracas-Venezuela. 2003, Pp. 23-28
48. Andrades, Patricio y otros. Curación avanzada de heridas. (Revista Chilena de Cirugía), Vol. 56, No. 4. Chile. Pp. 396-397, Junio 2004
49. Taboada, Antonio. 2013; "Cicatrización normal y patológica de las heridas". <http://uscmmed.files.wordpress.com/2013/10/cicatrizacic3b3n-normal-yypatolc3b3gica-de-las-heridas.pdf> 2014/06-28
50. Fundación Dr. Jordi Mas. Cicatrización de heridas, Barcelona-España. Revista. 2008, Pp. 5-18 http://web.intercom.es/jorgemas/Libro_Sutura.pdf 2014/06-27. "Evaluación del efecto cicatrizante de extractos a base de mastuerzo (*tropaeolum majus*) en ratones (*mus musculus*)"
51. Remington, farmacia (2011); obtenido de:
http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/geles_112.pdf; Determinación de la acción antimicótica in vitro de un gel elaborado a partir del aloe vera y perseá americana en la universidad de Guayaquil, facultad de ciencias químicas. Guayaquil, 2014.
52. Genomma Lab. Cicatricure Ficha Técnica. [En línea]. [Citado el 22 de febrero del 2016]. Disponible en:

<http://es.scribd.com/doc/58899781/Genomma-Lab-Cicatricure-Ficha-Tecnica>

53. ARA,A.(1999) 100 Plantas Medicinales Escogidas. Madrid-España. Editorial EDAFS.A,p.228
54. Ortuño M. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes Madrid: Aiyana Ediciones; 2006.
55. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp. 2012;27(1):76–89
56. Estrada, Rosa y otros. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. (Salud mental), Vol. 35, No. 5. México. Pp. 337, Septiembre-Octubre 2012
57. Kuklinski C. Farmacognosia Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Ediciones Omega S.A; 2000.
58. Hernandez ,Roberto y otros.Metodologias de la investigación 6ª edición 2016
59. Investigación Fitoquímica” por la doctora Olga Lock de Ugaz, de la pontificia universidad católica del Perú editorial 1994- Perú.
60. Villar del fresno, Ángel M. Madrid “Farmacognosia General”.
61. OECD Guidelines Testing of Chemicals. Acute Dermal Toxicity. Test 402. 1995
62. Nayak y col, 2005 El extracto de flor de Catharanthus roseus tiene actividad de curación de heridas en Ratas Sprague Dawley (publicación validada en la revista PubMed)
- 63.** Evaluación de la actividad de curación de heridas de Vanda roxburghii R.Br (Orchidacea): un estudio preclínico en un modelo de rata. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16286371>

ANEXO N° 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCÓHOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* L. (GUANÁBANA) EN RATAS ALBINAS

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES		METODOLOGÍA
GENERAL	GENERAL	GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE	INDICADORES	Tipo: Explicativo Diseño: Experimental Longitudinal Población muestra: La muestra animal estuvo conformada por 25 ratas albinas. Instrumento: ficha de observación ad-hoc Instrumento de recolección de datos técnica: observación estructurada no participante de laboratorio Procesamiento y análisis de datos: Análisis descriptivo e inferencial con los programas Excel mediante pruebas: -Anova
¿El gel a base de extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante en ratas albinas?	Determinar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) en ratas albinas	El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante en ratas albinas	Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)	Identificación de metabolitos secundarios Concentración: Control (-) Cicatricure (+) Extracto al 10% Extracto al 15% Extracto al 25%	
ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	ESPECÍFICOS	VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES	
1. ¿Qué metabolitos secundarios se encuentran presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana)? 2. ¿Cuál es la concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas? 3. ¿Tendrá efecto cicatrizante el gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) comparado con Cicatricure gel en ratas albinas?	1. Determinar los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana). 2. Determinar la concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante en ratas albinas. 3. Comparar el efecto cicatrizante del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) con Cicatricure gel en ratas albinas	1. Existen metabolitos secundarios en el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana). 2. Existe una concentración óptima del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) con mayor efecto cicatrizante. 3. El gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Annona muricata</i> L. (Guanábana) presenta efecto cicatrizante comparado con Cicatricure gel en ratas albinas.	Efecto cicatrizante	Cambios en el diámetro de la herida incisa del lomo de la rata medido con un vernier :1cm a 2cm Gramos de peso de la rata desde de 230 a 250 g.	

ANEXO N° 2: Recolección de la especie vegetal



**Figura N° 7: Recolección de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)
En el distrito de Lurigancho –Chosica**

Fuente: propia

ANEXO N° 3: Clasificación taxonómica de la especie vegetal

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltrani@yahoo.com

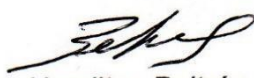
CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la planta proporcionada por YSABEL TARDEO VIDALON y YANET ROCIO BALVIN PALACIOS, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Annona muricata* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Magnoliidae
Orden: Magnoliales
Familia: Annonaceae
Género: *Annona*
Especie: *Annona muricata* L

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 10 Abril 2018


Blgo. Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltrán Santiago
Biólogo - Botánico
CBP. 2719

Figura N° 8: Constancia taxonómica de la especie vegetal

**EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE GUANABANA *Annona muricata* L.
EN RATAS ALBINAS CEPA HOLTZMAN**

ANEXO N° 4: Preparación de la materia prima



**Figura N° 9: Separación de las hojas de *Annona muricata* L.
(Guanábana)**

Fuente: propia



**Figura N° 10: Muestras puestas en papel Kraft para ser llevados a la
estufa**

Fuente: propia

ANEXO N° 5: Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana)



Figura N° 11: Filtrado de las muestras de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Fuente: propia



Figura N° 12: Muestras de Guanábana llevados a la estufa a 40° C

Fuente: propia

ANEXO N° 6: Preparación del gel a base del extracto de las hojas de *Annona muricata* L.



Figura N° 13: Preparación del gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana)

Fuente: propia

ANEXO N° 7: Prueba de screening fitoquímico



Figura N° 14: Tamizaje fitoquímico de las hojas de *Annona muricata* L.
(Guanábana)

Fuente: propia

ANEXO N° 8: Prueba de solubilidad



Figura N° 15: Solubilidad de las hojas de (Guanábana)

Fuente: propia

**ANEXO N° 9: Cromatografía de capa fina del extracto de hojas de
Annona muricata L.(Guanábana)**



Figura N° 16: Cromatografía de alcaloides y flavonoides

Fuente: propia

ANEXO N° 10: Trabajos de experimentación en el bioterio



Figura N° 17: Sala de experimentación

Fuente: propia



Figura N° 18: Pesaje de ratas albinas macho cepa Holtzman

Fuente: propia



Figura N° 19: Instrumentos de disección y anestésicos usados

Fuente: propia



Figura N° 20: Inoculación intraperitoneal para la sedación

Fuente: propia



Figura N° 21: Rasurado

Fuente: propia



Figura N° 22: Formación de heridas encisas

Fuente: propia

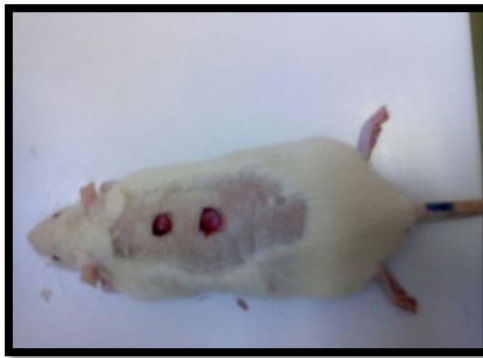


Figura N° 23: Control negativo

Fuente: propia



Figura N° 24: Grupo control positivo

Fuente: propia

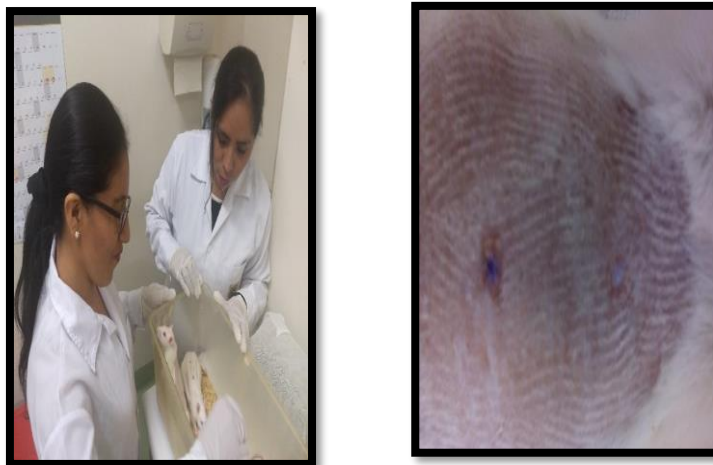


Figura N° 25: Dosis al 25% al final del tratamiento

Fuente: propia

ANEXO N° 11: Datos estadísticos del área de cierre de heridas en días

Área de cierre de herida (cm2)									Porcentaje de Efectividad
Grupo	Concentración	N° de rata	Incision	0 días	7 días	14 días	21 días	28 días	
Gel a base del extracto hidroalcohólico de las hojas de Annona muricata L. (Guanábana)	25%	1	Area	1.0000	0.9120	0.5402	0.2303	0.0756	92.44
		2	Area	0.9900	0.9312	0.6083	0.1980	0.0702	92.91
		3	Area	0.9900	0.9120	0.5112	0.2024	0.0812	91.80
		4	Area	0.9900	0.8930	0.5328	0.2208	0.0600	93.94
		5	Area	1.0000	0.8930	0.5112	0.1980	0.0575	94.25
		Promedio		0.9940	0.9082	0.5407	0.2099	0.0689	93.07
		Desviacion Estandar		0.0055	0.0160	0.0399	0.0148	0.0101	
	15%	1	Area	0.9900	0.9408	0.6723	0.3904	0.1763	82.19
		2	Area	1.0000	0.9312	0.6083	0.3770	0.1935	80.65
		3	Area	0.9900	0.9312	0.5112	0.3306	0.2208	77.70
		4	Area	1.0000	0.8930	0.6399	0.3304	0.1935	80.65
		5	Area	0.9900	0.9024	0.6162	0.2652	0.1763	82.19
		Promedio		0.9940	0.9197	0.6096	0.3387	0.1921	80.68
		Desviacion Estandar		0.0055	0.0207	0.0604	0.0492	0.0182	
	10%	1	Area	0.9900	0.9604	0.8099	0.6723	0.3422	65.43
		2	Area	1.0000	0.9506	0.7310	0.5852	0.3363	66.37
		3	Area	0.9801	0.9312	0.7743	0.5852	0.2860	70.82
		4	Area	0.9900	0.9506	0.8099	0.6004	0.3363	66.03
		5	Area	1.0000	0.9506	0.7832	0.5112	0.2808	71.92
		Promedio		0.9920	0.9487	0.7817	0.5909	0.3163	68.11
		Desviacion Estandar		0.0083	0.0107	0.0325	0.0573	0.0302	
Control (+)	Cicatricure	1	Area	1.0000	0.8099	0.0210	0.0099	0.0006	99.94
		2	Area	1.0000	0.7744	0.0224	0.0064	0.0009	99.91
		3	Area	1.0000	0.7482	0.0132	0.0035	0.0008	99.92
		4	Area	1.0000	0.7310	0.0099	0.0020	0.0004	99.96
		5	Area	1.0000	0.7656	0.0108	0.0024	0.0002	99.98
		Promedio		1.0000	0.7658	0.0155	0.0048	0.0006	99.94
		Desviacion Estandar		0.0000	0.0297	0.0058	0.0033	0.0003	
Control (-)	Control negativo	1	Area	1.0000	0.9702	0.8928	0.8280	0.7656	23.44
		2	Area	1.0000	0.9801	0.8835	0.8742	0.7480	25.20
		3	Area	0.9900	0.9506	0.8742	0.8463	0.7395	25.30
		4	Area	1.0000	0.9506	0.8556	0.8010	0.6972	30.28
		5	Area	0.9900	0.9216	0.8930	0.8010	0.6642	32.91
		Promedio		0.9960	0.9546	0.8798	0.8301	0.7229	27.43
		Desviacion Estandar		0.0055	0.0224	0.0156	0.0312	0.0413	

Fuente: propia

ANEXO N° 12: CERTIFICACIÓN SANITARIA



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

CERTIFICADO

Lima, 01 de agosto del 2018

Mediante la presente se certifica que las 25 ratas albinas (*Rattus norvegicus*) de la cepa Holtzman, machos con un promedio de peso de 230 g, adquiridos el 01 de agosto del 2018 por el bioterio de la UPCH, se encuentran en optimo estado sanitario y fisiológico para ser utilizado en cualquier protocolo biomédico.

Se expide este documento para fines pertinentes.

Atentamente,



Dr. CHRISTIAN PITOT ALVAREZ
Jefe de Bioterio
LID - UPCH
C.M.V. 8985

Av. Honorio Delgado N° 430, Urb. Ingeniería, San Martín de Porres / P. O. Box 4314, Lima 100

Central: (511) 319-0000 anexos: 2710

Página Web: www.upch.pe



ANEXO N° 13: FICHA AD – HOC

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE LA MARCHA FITOQUÍMICA

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana) EN RATAS ALBINAS

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.
Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.
En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea

MARCHA FITOQUÍMICA DE LA <i>Annona muricata</i> "Guanabana"				
Nº	Metabolito	Reactivo de Reacción	Reacción Positiva	Resultado
1.	CARBOHIDRATOS	Fehling A y Fehling B	Precipitado anaranjado ladrillo	
2.	ALMIDÓN	Lugol	Coloración oscura	
3.	CETONAS	2,4 DNPH	Formación de anillo rojizo	
4.	AMINOACIDO	Ninhidrina	Formación de color oscuro	
5.	ALCALOIDES	Mayer	Precipitado blanco	
		Wagner	Precipitado marrón	
		Dragendorff	Precipitado rojo o naranja	
		Scheibler	Precipitado blanco	
		Sonneschein	Precipitado naranja	
		Reineckato	Coloración rosa	
6.	COMPUESTOS FENÓLICOS	FeCl ₃	Coloración verde	
7.	TANINOS	Gelatina 1%	Precipitado denso blanco	
8.	FLAVONOIDES	Shinoda	Flavanoles: Rojo a magenta	
9.	NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Bortranger (NaOH 5%)	Coloración roja	

Leyenda:

(-) : La coloración o precipitado no se evidencia.
(+) : La coloración o precipitado es leve.

(++) : La coloración o precipitado es moderada.
(+++): La coloración o precipitado es total.



**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA**

**FICHA DE OBSERVACIÓN AD-HOC DE PRUEBA DE
SOLUBILIDAD**

EFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana) EN RATAS ALBINAS

INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.
Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.
En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea.

PRUEBA DE SOLUBILIDAD DE LA <i>Annona muricata</i> “Guanábana”		
N°	Solventes	Resultado
1.	Alcohol de 96°	
2.	Metanol	
3.	Cloroformo	
4.	Agua	
5.	Isopropanol	

Leyenda:
(-) : Insoluble. (++) : Moderadamente Soluble.
(+) : Poco Soluble. (+++) : Totalmente Soluble.

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA



N°

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
"Solubilidad"
CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana)
EN RATAS ALBINAS

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

7. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se logran los objetivos propuestos?..... () () () () (X) ()
8. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?..... () () () () (X) ()
9. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?..... () () () () (X) ()
10. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?..... () () () () (X) ()
11. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?..... () () () () (X) ()
12. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?..... () () () () (X) ()

SUGERENCIAS

4. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

Ninguno

5. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

Ninguno

6. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Ninguno

Fecha: 10 Enero 2019

Validado por:

Mg Luis Antonio Aranguren Belaunde



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

**FICHA DE OBSERVACION AD-HOC DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA
 DETERMINAR EL ÁREA DE CIERRE DE LA HERIDA**

**EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
 HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana) EN RATAS ALBINAS**
INSTRUCCIONES

Antes de iniciar con la observación, procure encontrarse en un estado de equilibrio emocional y somático.
 Si se siente cansado, estresado o enfermo, suspenda la observación.
 Procure realizar todas las mediciones bajo las mismas condiciones de comodidad.
 En el caso de no tener certeza sobre la medición de alguna unidad de análisis, descarte su evaluación.
 Registre los datos sin borrones ni enmendaduras.
 Los espacios en los que no pueda registrar información, táchelos con una línea

TABLA

Actividad Cicatrizante en el cierre de las diferentes concentraciones de la *Annona muricata* en ratas albinas macho de cepa Holtzman

Nº DE SEMANAS	Tabla de las Áreas de cierre de los diferentes concentraciones de la <i>Annona muricata</i> L. (GUANABANA)				
	Áreas de cierre de herida medidos con el Vernier				
	Concentración 10%	Concentración 15%	Concentración 25%	Control positivo (Cicatricure)	Control negativo (sin tratamiento)
0 Días					
7 Días					
14 Días					
21 Días					
28 Días					



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
DETERMINAR EL ÁREA DE CIERRE DE LA HERIDA

N°

CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana) EN RATAS ALBINAS

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

13. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se logran los objetivos propuestos?..... () () () () (X) ()
14. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?..... () () () () (X) ()
15. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?..... () () () () (X) ()
16. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?..... () () () () (X) ()
17. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?..... () () () () (X) ()
18. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?..... () () () () (X) ()

SUGERENCIAS

7. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

Ninguno

8. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

Ninguno

9. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

Ninguno

Fecha: 10 Enero 2019

Validado por: Dr. Pello Enrique Bouille Rivere



UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

HOJA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO
DETERMINAR EL ÁREA DE CIERRE DE LA HERIDA

N°

CUESTIONARIO AD-HOC DE RECOLECCION DE DATOS

EFFECTO CICATRIZANTE DEL GEL A BASE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE LAS
HOJAS DE *Annona muricata* L. (Guanábana) EN RATAS ALBINAS

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

MENOS DE

50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100

1. ¿En qué porcentaje estima que con este instrumento se logran los objetivos propuestos?..... () () () () () ()
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidas a los conceptos del tema?..... () () () () () ()
3. ¿Qué porcentaje de un ítems planteados cree que son suficientes para lograr los objetivos?..... () () () () () ()
4. ¿En qué porcentaje estima que los ítems del instrumento son de fácil comprensión?..... () () () () () ()
5. ¿Qué porcentaje de los ítems considera usted que siguen una secuencia lógica?..... () () () () () ()
6. ¿En qué porcentaje valora usted que con este instrumento se obtendrán datos similares si se explicara en otras muestras?..... () () () () () ()

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera usted que deberían agregarse?

.....

2. ¿Qué ítems estima que deberían eliminarse?

.....

3. ¿Qué ítems considera que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....

Fecha:

Validado por: